

**MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR OVINEN CEROIDLIPOFUSZINOSE
AN FETALEN GEWEBEN UND PLAZENTEN
SOWIE AN LEUKOZYTEN UND ISOLIERTEN
SUBZELLULÄREN STRUKTUREN**

Inge Döpfner

Disbui. München

1989





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem
Institut für Tierpathologie der Universität München
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie
Vorstand Prof. Dr. E. Dahme
und dem
Department of Veterinary Pathology, Massey University,
Palmerston North, Neuseeland
Projektleiter Prof. Dr. R.D. Jolly

MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR OVINEN CEROIDLIPOFUSZINOSE
AN FETALEN GEWEBEN UND PLAZENTEN SOWIE AN LEUKOZYTEN UND
ISOLIERTEN SUBZELLULÄREN STRUKTUREN

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Inge Döpfmer
aus
Stadtsteinach

München 1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Univ.-Prof. Dr. E. Dahme

Korreferent: Prof. Dr. I. Rüsse

Tag der Promotion: 28. Juli 1989

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstr. 15, Tel. 288663

1.	E I N L E I T U N G	1
2.	L I T E R A T U R Ü B E R B L I C K	3
2.1.	HISTORISCHER RÜCKBLICK	3
2.2.	ALLGEMEINE MERKMALE DER CEROIDLIPOFUSZINosen	4
2.2.1.	AUFLISTUNG KLINISCHER UND EPONYMISCHER BE- ZEICHNUNGEN DER KLASSISCHEN FORMEN DER HUMANEN CL BZW. NCL	5
2.2.2.	VERERBUNG DER CL	5
2.2.3.	PRÄVALENZ DER HUMANEN CL-FORMEN	6
2.2.4.	ÜBERBLICK ÜBER DIE KLINIK HUMANER CL-FORMEN	6
2.2.5.	ALLGEMEINE PATHOLOGISCHE SYMPTOME DER NCL	7
2.2.5.1.	MAKROSKOPISCHE BEFUNDE	7
2.2.5.2.	NEUROHISTOLOGISCHE BEFUNDE	7
2.2.5.3.	ULTRASTRUKTURELLE MERKMALE DER HUMANEN NCL	8
2.2.5.4.	KLINISCHE PATHOLOGIE DER NCL	9
2.3.	DIE INFANTILE NCL	12
2.3.1.	KLINIK	12
2.3.2.	MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE	12
2.3.3.	HISTOPATHOLOGIE	13
2.4.	DIE SPÄTINFANTILE NCL	14
2.4.1.	KLINIK	14
2.4.2.	MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE	14
2.4.3.	HISTOPATHOLOGIE	14
2.5.	DIE JUVENILE NCL	15
2.5.1.	KLINIK	15
2.5.2.	MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE	15
2.5.3.	HISTOPATHOLOGIE	15
2.6.	DIE ADULTE NCL	17
2.6.1.	KLINIK	17
2.6.2.	MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE	17
2.6.3.	HISTOPATHOLOGIE	17
2.7.	CEROIDLIPOFUSZINosen BEI HUND UND KATZE	18
2.7.1.	KLINIK	19
2.7.2.	MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE	21
2.7.3.	NEUROHISTOPATHOLOGIE	21

2. 8.	CEROIDLIPOFUSZINOSE BEI WIEDERKÄUERN	22
2. 8.1.	KLINIK DER OCL	24
2. 8.2.	MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE DER OCL	25
2. 8.3.	LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE SOWIE BIOCHEMISCHE MERKMALE DER OCL	25
2. 9.	ZUR VERGLEICHENDEN PATHOLOGIE DER CEROIDLIPO- FUSZINOLEN	27
2. 9.1.	VERÄNDERUNGEN AM AUGE BEI MENSCH UND TIEREN	27
2. 9.1.1.	OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER INFAN- TILEN CL DES MENSCHEN	28
2. 9.1.2.	OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER SPÄT- INFANTILEN CL DES MENSCHEN	29
2. 9.1.3.	OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER JUVE- NILEN CL DES MENSCHEN	29
2. 9.1.4.	OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER ADUL- TEN CL DES MENSCHEN	30
2. 9.1.5.	OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER CL DES HUNDES (CCL)	30
2. 9.1.6.	OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER CL DES SCHAFES (OCL)	30
2. 9.2.	VERGLEICHENDE PATHOLOGIE EXTRANEURALER GEWEBE BEI OCL UND CCL	31
2.10.	BISHER DISKUTIERTE MECHANISMEN DER PATHOGENE- SE DER CL	36
2.10.1.	LIPIDPEROXIDATION ALS MÖGLICHER AUSLÖSENDE FAKTOR	36
2.10.1.1.	MÖGLICHE ENZYMEFEKTE IN DER GRUPPE DER PER- OXIDASEN BEI DER CL	36
2.10.1.2.	MÖGLICHE PATHOGENETISCHE BEDEUTUNG FREIER RA- DIKALE FÜR DIE CL	37
2.10.1.3.	MÖGLICHE PATHOGENETISCHE BEDEUTUNG VON EISEN- STOFFWECHSELSTÖRUNGEN FÜR DIE CL	38
2.10.2.	MÖGLICHE PATHOGENETISCHE BEDEUTUNG VON STÖ- RUNGEN IM FETTSÄUREMUSTER FÜR DIE CL	39
2.10.3.	MÖGLICHE BEDEUTUNG VON RETINOIDVERBINDUNGEN UND DOLICHOLEN FÜR DIE CL-PATHOGENESE	40
2.10.4.	CEROIDLIPOFUSZINOSE ALS MÖGLICHE PROTEINOSE	43
2.10.4.1.	LIPAPIGMENTAKKUMULATION, VERURSACHT DURCH DEN DEFEKT EINER LYSOSOMALEN PROTEASE	43

2.10.4.2.	MÖGLICHE BEDEUTUNG EINER STÖRUNG IM GLYKO- PROTEINSTOFFWECHSEL FÜR DIE PATHOGENESE DER JUVENILEN NCL	44
2.10.4.3.	OVINE CEROIDLIPOFUSZINOSE ALS "PROTEOLIPID- PROTEINOSE"	45
2.10.5.	MÖGLICHE PATHOGENETISCHE BEDEUTUNG DER ERYTH- ROPHAGOZYTOTOSE FÜR DIE CL - EINE AUF MORPHOLO- GISCHEN BEOBACHTUNGEN BERUHENDE HYPOTHESE	45
3.	E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N	46
3. 1.	MATERIAL UND METHODEN	46
3. 1.1.	AUSWAHL DER TRÄCHTIGEN OCL-POSITIVEN UND KON- TROLL-MUTTERSCHAFE FÜR DIE PROBENENTNAHME	46
3. 1.2.	VORBEREITUNG ZUR SECTIO CAESAREA	47
3. 1.3.	GEWINNUNG FETALER ORGANPROBEN	48
3. 1.4.	GEWINNUNG DER PLAZENTAPROBEN	48
3. 1.5.	HISTOLOGIE	49
3. 1.6.	ELEKTRONENMIKROSKOPIE	50
3. 1.7.	GEWINNUNG DER BLUTPROBEN UND AUFBEREITUNG DER WEIßEN BLUTZELLEN FÜR DAS ELEKTRONENMIKROSKO- PIEREN	51
3. 1.7.1.	AUFBEREITUNG DES "BUFFY COAT"	51
3. 1.7.2.	AUFBEREITUNG EINER LYMPHOZYTENANREICHERUNG	51
3. 1.8.	ISOLATION UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFBE- REITUNG VON AUS OCL-POSITIVEN UND KONTROLLGE- WEBEPROBEN ISOLIERTEN SUBZELLULÄREN STRUKTUREN	52
3. 1.8.1.	ISOLATION VON MITOCHONDRIEN UND SUBMITOCHON- DRIALEN PARTIKELN	52
3. 1.8.2.	ISOLATION VON OCL-SPEZIFISCHEN ZYTOSOMEN	53
3. 1.8.3.	AUFBEREITUNG DER ISOLATE FÜR DAS ELEKTRONEN- MIKROSKOP	53
3. 2.	ERGEBNISSE	54
3. 2.1.	LICHT- UND FLUORESCENZMIKROSKOPISCHE BEFUNDE	54
3. 2.1.1.	HIRNGEWEBE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL- FETEN	54
3. 2.1.2.	LEBERGEWEBE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL- FETEN	54
3. 2.1.3.	NIERE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN	55

3.2.1. 4.	NEBENNIERE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN	55
3.2.1. 5.	PANKREAS VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN	55
3.2.1. 6.	PLAZENTAGEWEBE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-SCHAFEN	55
3.2.1. 7.	ZUSAMMENFASSUNG DER LICHT- UND FLUORESCENZ-MIKROSKOPISCHEN UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-GEWEBEN	56
3.2.2.	ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE BEFUNDE	58
3.2.2. 1.	HIRNGEWEBE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN	58
3.2.2. 2.	LEBER VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN	66
3.2.2. 3.	PANKREAS VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN	67
3.2.2. 4.	NIERE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN	67
3.2.2. 5.	NEBENNIERE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN	67
3.2.2. 6.	PLAZENTA VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-SCHAFEN	72
3.2.2. 7.	LYMPHOZYTEN DES PERIPHEREN BLUTES ERWACHSENER SCHAFE	73
3.2.2. 8.	ÜBERSICHT ÜBER VORKOMMEN, LOKALISATION, GRÖÖE, ANZAHL UND FEINSTRUKTUR DER IN ORGANGEWEBEN VON OCL-POSITIVEN FETEN VORGEFUNDENEN ZELLEINSCHLÜÖSE IN ABHÄNGIGKEIT VOM ALTER DER FETEN BZW. VOM TRÄCHTIGKEITSSTATUS DER OCL-SCHAFE	74
3.2.2. 9.	VERGLEICH DER AUS OCL-GEWEBEN ISOLIERTEN MITOCHONDRIEN MIT DENEN AUS KONTROLL-GEWEBEN	76
3.2.2.10.	VERGLEICH DER AUS OCL-GEWEBEPROBEN ISOLIERTEN SUBMITOCHONDRIALEN PARTIKEL MIT DENEN AUS KONTROLL-GEWEBEN	76
3.2.2.11.	VERGLEICH DER ISOLIERTEN OCL-ZYTOSOMEN MIT ISOLIERTEN MITOCHONDRIEN UND SUBMITOCHONDRIALEN PARTIKELN	77
4.	D I S K U S S I O N	82
4.1.	HISTOLOGIE UND HISTOCHEMIE	82
4.2.	ELEKTRONENMIKROSKOPIE	85
4.3.	VORSCHLÄÖE FÜR DIE DURCHFÜHRUNG WEITERER UNTERSUCHUNGEN AN PLAZENTEN UND FETALEM OCL-GEWEBE	91

4.4.	HINWEISE AUF MÖGLICHE ZUSAMMENHÄNGE ZWISCHEN LYSOSOMALER AKKUMULATION VON MITOCHONDRIEN UND DER MORPHOGENESE VON OCL-ZYTOSOMEN	93
4.5.	ZUR PATHOGENESE DER OCL	95
5.	A N H A N G :	
	ORIENTIERENDES ZELLKULTUREXPERIMENT	98
5.1.	PHAGOZYTOTOSE DES LIPOPIGMENTES	98
5.2.	ZYTOTOXIZITÄT DES LIPOPIGMENTES	98
5.3.	KATABOLISMUS DES LIPOPIGMENTES	99
6.	Z U S A M M E N F A S S U N G	100
7.	S U M M A R Y	102
8.	L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S	104



1. E I N L E I T U N G

Die Ceroidlipofuszinosen (CL) bilden eine eigene Gruppe unter den erblich bedingten lysosomalen Speicherkrankheiten (The-saurismosen). Sie kommen beim Menschen und auch bei verschiedenen Säugetierarten und -rassen vor. Visusverlust, Demenz, Krämpfe, eine Vielzahl neurologischer Symptome und ein vorzeitiger Tod gehören zu den klinischen Symptomen, die man bei den meisten Formen der Ceroidlipofuszinose vorfindet. Das allen bei Mensch und Tier vorkommenden Formen gemeinsame morphologische Merkmal ist die intrazelluläre Akkumulation von fluoreszenzmikroskopisch nachweisbarem Lipopigment in Neuronen und anderen zum Nervensystem gehörenden Zellen, aber auch in Zellen anderer Gewebe. Die Biogenese der krankheits-spezifischen intrazellulären Lipopigmenteinschlüsse und somit die Pathogenese der Ceroidlipofuszinose sind noch nicht geklärt, und es ist auch noch nicht gelungen, den mit einem frühzeitigen Tod endenden Verlauf der Krankheit wesentlich zu beeinflussen.

Ein wichtiges Ziel bei der Erforschung der Ceroidlipofuszinose ist u.a. die Erarbeitung einer zuverlässigen Methode der pränatalen Diagnose. Daneben steht das Bestreben, die chemische Zusammensetzung des krankheitsspezifischen, intrazellulär gespeicherten Lipopigmentes zu analysieren und den genetischen Defekt als auslösende Ursache zu ermitteln und zu lokalisieren.

Die Erforschung der caninen und ovinen Ceroidlipofuszinose hat gezeigt, daß diese beiden Krankheiten wesentliche Züge mit der humanen Ceroidlipofuszinose gemeinsam haben und demzufolge grundsätzlich als Tiermodelle hergenommen werden können.

Dieser Arbeit liegen folgende Problemstellungen bzw. Aufgaben zugrunde:

Zunächst befaßt sie sich mit dem morphologischen Studium der ovinen Ceroidlipofuszinose an positiven Feten, Plazenten und weißen Blutzellen. Es wird davon ausgegangen, daß fetales und

plazentäres Gewebe am ehesten pathologische Zellveränderungen im Sinne von Frühstadien der CL zeigen könnten. Deren Ultrastruktur könnte u.U. weitere Hinweise auf die Morphogenese der für CL pathognomonischen Zelleinschlüsse geben.

Weitere Experimente stützen sich auf bisherige Ergebnisse biochemischer Untersuchungen von OCL-Geweben, die darauf hinweisen, daß sich bei der OCL ein Fragment einer Untereinheit eines mitochondrialen Enzyms lysosomal anreichert und somit die Hauptkomponente krankheitsspezifischer Zelleinschlüsse darstellt. Im Hinblick auf dieses Ergebnis wurde eine morphologische Untersuchung von aus OCL- und Kontrollgeweben isolierten Mitochondrien und submitochondrialen Partikeln sowie von isolierten OCL-spezifischen Zelleinschlüssen durchgeführt, und die Isolate wurden untereinander verglichen.

Ein orientierender Zellkulturversuch sollte zur Prüfung des Verhaltens muriner Zellkultur-Makrophagen dienen, wenn ihrem Nährmedium verschiedene Konzentrationen von isoliertem OCL-spezifischem Lipopigment zugesetzt werden.

2. L I T E R A T U R Ü B E R B L I C K

2.1. HISTORISCHER RÜCKBLICK

Bevor sich ZEMAN und DYKEN (1969) mit der historischen Aufarbeitung und der genauen Definition der amaurotischen familiären Idiotien auseinandersetzten, vereinigte dieser Sammelbegriff eine Vielzahl erblich bedingter lysosomaler Speicherkrankheiten, zu deren klinischer Symptomatik Visusverlust, Demenz und frühzeitiger Tod zählen. ZEMAN und DYKEN differenzierten zwischen der unter dem Namen Tay-Sachs-Syndrom bekannten infantilen GM2-Gangliosidose (vom Typ 1), welcher eine defekte Enzymaktivität der Hexosaminidase A zugrunde liegt (LAKE, 1984), und einer weiteren Gruppe von klinisch verwandten Erkrankungen, der sie den Namen neuronale Ceroidlipofuszinose (NCL) gaben und deren Pathogenese bis heute noch nicht völlig geklärt ist.

Dieses heute in der Fachsprache mit NCL abgekürzte Syndrom wurde von STENGEL bereits im Jahre 1826 beschrieben. Obwohl sich seitdem viele Kliniker, Pathologen und Biochemiker mit dieser Erkrankung befaßt haben, konnte weder das sich intrazellulär in Lysosomen anreichernde Krankheitsspezifische Lipopigment chemisch genau analysiert noch ein zu vermutender auslösender Enzymdefekt und die ihm zugrunde liegende Veränderung im Erbmateriale gefunden werden.

Die Ursache für die primär neurologische Symptomatik vieler erblich bedingter lysosomaler Speicherkrankheiten wird darin gesehen, daß Neuronen zum einen als äußerst stoffwechselaktive Zellen vermehrt Speichermateriale anreichern, zum anderen als nicht mehr teilungsfähige fixiert postmitotische Zellen sich des einmal angereicherten Materials nicht entledigen können.

Der von ZEMAN und DYKEN geprägte Begriff "neuronale Ceroidlipofuszinose" ist nicht ganz korrekt, da es sich um eine generalisierte Krankheit (CL) handelt, die histologisch durch Lipopigmentanreicherung in Zellen vieler Gewebe charakterisiert ist. Der von JOOSTEN et al. (1973) vorgeschlagene

Terminus "Generalisierte Ceroidlipofuszinose" stimmt mit der Histopathologie dieses Erbleidens also weit besser überein. Von ZEMAN und DONAHUE (1963) durchgeführte licht- und elektronenmikroskopische Studien sowie die historische Aufarbeitung früher Fallbeschreibungen durch ZEMAN und DYKEN (1969) ermöglichten die heute übliche, in Tabelle I zusammengefaßte Aufgliederung der CL. Die infantile (Haltia-Santavuori) Form, die spätinfantile (Janski-Bielschowsky) Form, die juvenile (Batten-Mayou, Spielmeyer-Vogt, Spielmeyer-Sjoegren) Form und die adulte (Kufs) Form gelten als klassische Formen der NCL. Eponymische Termini werden leider weiterhin verwendet, und im englischen Sprachgebrauch ist der Ausdruck "Batten Disease" allgemein als Überbegriff für alle Formen der humanen CL akzeptiert worden (RIDER u. RIDER, 1988). Zu den Varianten der klassischen Formen zählen die frühe juvenile Form (LAKE u. CAVANAGH 1978; LIBERT et al., 1982), die protrahierte juvenile Form (GOEBEL et al., 1976; LIBERT et al.), eine atypische juvenile Form (GREENWOOD u. NELSON, 1978) und weitere atypische Fälle (SEITELBERGER u. SIMMA, 1962; HOUROUPIAN u. ROSS, 1977; JERVIS u. PULLARKAT, 1978; GOLDMANN et al., 1979; PROOPS u. GREEN 1981; IKEDA et al., 1984).

Intensiv erforscht wurden unter den animalen Formen die canine und die ovine CL, und man erhofft sich, durch weitere Arbeit an Hunde- und Schafmodellen Näheres über die Pathogenese dieser lysosomalen Speicherkrankheit zu erfahren, so daß u.a. ihre genauere Charakterisierung die Zuordnung eines besser passenden Namens ermöglichen sollte.

2.2. ALLGEMEINE MERKMALE DER CEROIDLIPOFUSZINOLEN

Bei der Klassifizierung der humanen CL spielt die klinische Symptomatik eine entscheidende Rolle. Das jeweils erreichte Alter beim Ausbruch der Krankheit bzw. beim Einsetzen der charakteristischen Symptome ist maßgebend bei der Diagnose, die jedoch durch licht-, fluoreszenz- und elektronenmikroskopische Untersuchungen bestätigt werden muß.

2.2.1. TABELLE I:

AUFLISTUNG KLINISCHER UND EPONYMISCHER BEZEICHNUNGEN DER KLASSISCHEN FORMEN DER HUMANEN CL BZW. NCL UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DES ALTERS BEI MANIFESTIERUNG DER ERKRANKUNG

Klinische Bezeichnung	Eponym	Alter bei Manifestierung
Infantile NCL	Haltia-Santavuori	1-2 Jahre
Spätinfantile NCL	Jansky-Bielschowsky	2-4 Jahre
Juvenile NCL	Batten-Mayou- Spielmeyer-Vogt- Sjoegren	4-8 Jahre
Adulte NCL	Kufs	20 Jahre u. älter

2.2.2. VERERBUNG DER CL

Eine möglicherweise dominant vererbte Form vom Typ der adulten NCL ist in fünf Generationen einer Familie dokumentiert (BOEHME et al., 1971; LEONBERG et al., 1982). Alle weiteren humanen sowie die caninen und die ovinen Formen werden autosomal rezessiv vererbt.

Wenn in einer Familie mehr als ein Mitglied an einer der vier klassischen Formen der NCL leidet, dann bricht die Krankheit bei allen Betroffenen etwa im gleichen Alter aus (ein Phänomen, das man Homochronismus nennt). Sie zeigt auch einen nahezu identischen Verlauf, was man mit dem Terminus Homotypismus zum Ausdruck bringt (ZEMAN, 1976). Diese beiden Phänomene deuten darauf hin, daß es sich bei den verschiedenen

Formen der NCL um verschiedene genetische Varianten handeln dürfte.

2.2.3. PRÄVALENZ DER HUMANEN CL-FORMEN

Die humanen CL treten zwar selten auf, jedoch sind sie bei vielen Rassen und ethnischen Gruppen dokumentiert.

Die Prävalenz aller Formen der NCL in Finnland wird mit 7,85 auf 100 000 Einwohner angegeben. Die Inzidenz der infantilen NCL wird auf einen Fall auf 25 000 Geburten hochgerechnet, was einer Trägerhäufigkeit von ca. 1% entspricht (SANTAVUORI et al., 1974).

In Dänemark, einem Land mit 5 Millionen Einwohnern, sind im Jahre 1981 21 Patienten dokumentiert, und die Inzidenz wird auf ein bis drei Fälle pro 100 000 Geburten geschätzt (RESKE-NIELSEN et al., 1981).

Von etwa einem Dutzend neuer NCL-Fälle pro Jahr wird in Großbritannien berichtet, wobei man bei etwa einem Viertel der Fälle die juvenile Form diagnostiziert (HENRY u. STEVENS, 1982).

Auf Prävalenzdaten der spätinfantilen und adulten Form wird in der Literatur nicht eingegangen. Obwohl exakte Aussagen über Prävalenzdaten nicht möglich sind, wird angenommen, daß die neuronalen Ceroidlipofuszinosen bei Kindern und bei Jugendlichen die am häufigsten vorkommende Gruppe neurogenetischer Speicherkrankheiten bilden (RIDER u. RIDER, 1988).

2.2.4. ÜBERBLICK ÜBER DIE KLINIK HUMANER CL-FORMEN

Zu den auffallenden klinischen Symptomen der NCL zählen Visusverlust, fortschreitende geistige und motorische Behinderung sowie eine deutlich reduzierte Lebenserwartung. EEG-Befunde von NCL-Patienten zeigen Abweichungen von der Norm, die jedoch nicht typisch für diese Thesaurismose sind, sondern auch bei anderen Formen von zerebraler Degeneration und bei Anfallserscheinungen verschiedener Ätiologie vorgefunden werden. Fortschreitende Hirnatrophie kann durch Serienelek-

troenzephalogramme dokumentiert werden, deren Interpretation prognostische Aussagekraft hat (ZEMAN, 1970; ZEMAN, 1976).

2.2.5. ALLGEMEINE PATHOLOGISCHE SYMPTOME DER NCL

2.2.5.1. MAKROSKOPISCHE BEFUNDE

Hirnatrophien verschiedener Grade finden sich bei allen bisher beschriebenen Formen bei Mensch und Tier.

2.2.5.2. NEUROHISTOLOGISCHE BEFUNDE

Krankheitsspezifische Lipopigmente erscheinen im Fluoreszenzmikroskop bei Exzitation mit UV-Licht gelbgrün bis gelborange im Sinne einer Primärfluoreszenz oder Autofluoreszenz. Sie sind deutlich sudanophil, PAS-positiv, und mit Ausnahme der bei der infantilen Form auftretenden Lipopigmente erscheinen sie blau bei Färbung mit Luxol Fast blue (LAKE, 1984). Die Größe der Lipopigmentzeleinschlüsse und die Farbintensität bei PAS- und Luxol-Fast-blue-Färbung sowie die Intensität der Autofluoreszenz nehmen mit der Krankheitsdauer zu.

Bei allen Formen der humanen NCL sowie bei den caninen und ovinen Formen findet man im ZNS Schwellung und Vakuolisierung von Nervenzellperikaryen und Verlust an Nissl-Substanz sowie Gliosen (KOPPANG, 1973/74; MALKUSCH, 1984; SHIMADA, 1987).

In histologischen Gehirnschnitten von Patienten mit juveniler und adulter NCL wie auch bei der caninen und der ovinen CL sind bei einigen III a b Pyramidenzellen des Isocortex spindelförmige Anschwellungen der proximalen Axonhügel zu erkennen, die voller Lipopigment sind (BRAAK et al., 1984; MALKUSCH, 1984; SHIMADA, 1987).

Bei der humanen NCL (ZEMAN u. SIAKOTOS, 1973) ist das Absterben von Neuronen dokumentiert, die nur geringe Mengen an intrazellulärem Lipopigment enthalten.

2.2.5.3. ULTRASTRUKTURELLE MERKMALE DER HUMANEN NCL

Elektronenmikroskopische Studien von TERRY und KOREY (1960), TERRY und WEIß (1963) und ZEMAN und DONAHUE (1963) führten zur separaten Klassifizierung von NCL und Tay-Sachs-Syndrom. Es gelang, die Aktivität der lysosomalen Säure-Phosphatase in den krankheitsspezifischen Zelleinschlüssen festzustellen. Somit konnte die NCL als lysosomale Speicherkrankheit definiert werden (KOENIG et al., 1964; GONATAS et al., 1968; SIAKOTOS et al., 1972). Größe, Anzahl und innere Struktur der einzelnen intrazellulären Lipopigmentgranula variieren. Ultrastrukturell ist grundsätzlich zwischen einer granulären Matrix und verschiedenen Membrankonfigurationen zu unterscheiden (ZEMAN u. SIAKOTOS, 1973). Die meisten Lipopigmentkorpuskel entsprechen dem Typ eines Autophagolysosoms, d.h. sie sind von einer Membran umgeben, deren Ultrastruktur entweder der der Zellmembran entspricht oder sich aus zwei elektronendichten Schichten zusammensetzt, die näher aneinander liegen als bei dem unit-membrane Modell (HALTIA et al., 1973b). Zur näheren Charakterisierung von lysosomalen Lipopigmentansammlungen dienen folgende englischsprachige Bezeichnungen, die in deutschsprachigen Publikationen i.d.R. unübersetzt belassen bleiben:

-Multiloculated lipid bodies	(ZEMAN u. DONAHUE, 1963)
-multilamellar cytosomes	(GONATAS et al., 1968)
-curvilinear bodies	(DUFFY et al., 1968)
-rectilinear profiles	(GOEBEL et al., 1982)
-fingerprint bodies	(SUZUKI et al., 1968)
-zebra bodies	(ELFENBEIN u. CANTOR, 1969; ZEMAN et al., 1970; HERMAN et al., 1971)
-membraneous cytoplasmic bodies	(SLUGA u. MAJDETZKI, 1967)
-crystalloid inclusions	(DONAHUE et al., 1966).

Es gibt keine festen Regeln, welche Typen von Lipopigmentfeinstrukturen bei bestimmten Formen der NCL vorkommen (GOEBEL et al., 1979b), jedoch dominiert i.d.R. die für eine Form jeweils besonders charakteristische Ultrastruktur (ZEMAN et al., 1970; HERMAN et al., 1971; DYKEN u. TREFZ, 1979). GOEBEL et al. (1979b) ziehen daraus den Schluß, daß die verschiedenen Feinstrukturen, die man bei jedem Fall einer klassischen NCL vorfinden kann, wohl eher durch alters- und gewebsspezifische biochemische Prozesse bedingt sind, als daß es sich um ein für die jeweilige Form der NCL typisches Phänomen handelt. Elektronenmikroskopische Studien verschiedener Autoren zeigen, daß bei der infantilen (HALTIA et al., 1973b), bei der spätinfantilen (DUFFY et al., 1968; ANDREWS et al., 1971; DOLMAN u. CHANG, 1972; DE BAECQUE et al., 1976) und bei der juvenilen Form (CARPENTER et al., 1972; TOWFIGHI et al., 1973; MILEY et al., 1978) in jedem Organ, das untersucht wurde, krankheitsspezifische Zelleinschlüsse vorkommen.

2.2.5.4. KLINISCHE PATHOLOGIE DER NCL

Tabelle II:

Anwendung verschiedener Techniken zur Diagnose der NCL

Elektronenmikroskopische Begutachtung von Biopsien folgender Gewebe sind von diagnostischer Bedeutung:

-Haut	(CARPENTER et al., 1972; DOLMAN et al., 1975; CEUTERICK et al., 1976; FARRELL u. SUMI, 1977; SIPE u. O'BRIEN, 1979; ISHII et al., 1981; HENRY u. STEVENS, 1982; FINKEL et al., 1983)
-------	---

-Skelettmuskel	(GOEBEL et al., 1975; DOM et al., 1979; VERCRUYSSSEN et al., 1984)
-Nervus fibularis	(JOOSTEN et al., 1973)
-Rektalschleimhaut	(LAKE, 1977) LAKE u. CAVANAGH, 1978; SIEGISMUND et al., 1982; RAPOLA et al., 1984)
-Zäkalschleimhaut	(VAN HAELEST u. GABREELS, 1972; RAPOLA u. HALTIA, 1973; ELLEDER, 1987)
-Urinsediment	(DE BAECQUE, 1975; ARMSTRONG et al., 1977; DOLMAN et al., 1980)
-Zellen der Amnionflüssigkeit	(MAC LEOD et al., 1985; MAC LEOD et al., 1988)
-Chorionvilli	(RAPOLA et al., 1988)
-Leukozyten	(DE BAECQUE, 1975; NAKANO et al., 1979; HAYNES et al., 1979)
-Zahnpulpa	(WITKOP et al., 1984)

Die licht- und elektronenmikroskopische Begutachtung von Biopstaten fraglicher NCL-Patienten führt, soweit es sich um eine der vier klassischen Formen handelt, i.d.R. zu einer sicheren Diagnose, noch bevor die ersten klinischen Symptome auftreten.

Die pränatale Diagnose der NCL ist nach wie vor problematisch. Bisher wurden bei sechs Risikoschwangerschaften diagnostische Amniocentesen durchgeführt, wobei zwei CL-positive Diagnosen gestellt werden konnten. Das Auftreten von krankheitsspezifischen Zelleinschlüssen in unkultivierten Zellen der Amnionflüssigkeit ermöglicht in jedem Fall eine positive Diagnose. Andererseits darf aber das Fehlen von charakteristischen Zelleinschlüssen nicht als krankheitsausschließende Diagnose interpretiert werden. Nekrotische Zellen, die nicht ausgewertet werden können, überwiegen im Ultra-

dünnschnitt, so daß das Fehlen von krankheitsspezifischen Zelleinschlüssen durch einen Mangel an auswertbaren Zellen bedingt sein und so ein negatives Ergebnis vorgetäuscht werden kann. Da selbst bei optimaler technischer Durchführung der Amniozentese die Anzahl der auswertbaren Zellen nicht beeinflusbar ist, ist diese Methode der pränatalen Diagnose nicht weiter entwicklungsfähig und kann bei der genetischen Beratung heterozygoter Elternpaare nur als Notlösung angeboten werden, die lediglich im positiven Fall Aussagekraft hat.

Bei einer von fünf post partum untersuchten Plazenten, die von Müttern mit bereits an infantiler CL erkrankten Kindern stammten, wurden in Kapillarendothelzellen der Chorionvilli elektronendichte membrangebundene Einschlüsse mit flockigem Profil gefunden. Ähnliche Einschlüsse zeigten sich in autonomen Ganglien eines Rektalschleimhautbiopsats, das drei Monate post partum von dem an Hand von Plazentaproben verdachtsweise positiv diagnostizierten Säugling entnommen worden war (RAPOLA et al., 1988).

Lichtmikroskopisch sichtbare Veränderungen an Lymphozyten sind ein Merkmal der juvenilen NCL des Menschen. Bei einem Routine-Blutausstrich kann man wenigstens in einigen (oft in bis zu 50%) der Lymphozyten leere Vakuolen erkennen (NAKANO et al., 1979). Im Elektronenmikroskop erscheint nur ein Teil der lymphozytären Vakuolen optisch leer, während andere Vakuolen parallele tubuläre Strukturen (BRUNNING u. PARKING, 1975), fingerabdruckartige Strukturelemente (GOEBEL et al., 1974), "curvilinear and rectilinear profiles" (STEKHOVEN u. VAN HAELST, 1976) oder konzentrisch laminar aufgebaute Zeleinschlußkörper, die zusätzlich dichte, amorphe Strukturen aufweisen, enthalten. Ähnliche Einschlüsse wie in den Lymphozyten kommen in den Plasmazellen des Knochenmarks vor. Weiterhin sind bei der juvenilen Form in etwa 8% der Erythrozyten des Blutausstriches lichtmikroskopisch Vakuolen sichtbar, die im Elektronenmikroskop amorphe und/oder membranöse Strukturen aufweisen (NAKANO et al., 1979).

Bei den anderen humanen NCL-Formen des Kindesalters sind in den Blutzellen nur im Elektronenmikroskop Abweichungen von der Norm zu erkennen.

Bei der infantilen Form weisen etwa 10% der Lymphozyten granuläre, osmiophile Einschlüsse auf (HAYNES et al., 1979). Bei der spätinfantilen Form kann man elektronenmikroskopisch "curvilinear profiles" in Lymphozyten erkennen (STEKHOVEN u. VAN HAELEST, 1976; DOLMAN et al., 1975; DE BAECQUE et al., 1976).

2.3. DIE INFANTILE NCL

2.3.1. KLINIK

Die ersten Symptome treten im Alter von acht bis 16 Monaten auf. Bis zum Alter von acht Monaten zeigen betroffene Kinder eine völlig normale Entwicklung. Im Alter von acht bis 18 Monaten beginnt eine schnell fortschreitende Verzögerung der psychomotorischen Weiterentwicklung, begleitet von Ataxie, klonischen Krämpfen, Visusverlust und Hypotonie. Bei drei bis zehn Jahre alten Patienten hat, je nach Geschwindigkeit des Krankheitsverlaufes, die Hirnatrophie das Finalstadium der Mikroenzephalie erreicht. Das Elektroenzephalogramm erscheint isoelektrisch, d.h. die normale elektrische Aktivität der Hirnrinde ist völlig aufgehoben. Patienten dieses Stadiums sind ohne Wahrnehmung und zeigen keinerlei Bewegungsaktivität. Bei intensiver Betreuung können sie bis etwa zum 14. Lebensjahr am Leben erhalten werden. Im Durchschnitt wird ein Alter von acht Jahren erreicht (Lake, 1984; Zeman, 1970).

2.3.2. MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE

Verdickung der Schädelknochen und der Dura sowie starke Atrophie von Groß- und Kleinhirn bei relativ unverändertem Hirnstamm sind auffallende Veränderungen bei der infantilen NCL (Lake, 1984).

2.3.3. HISTOPATHOLOGIE

In histologischen Gehirnschnitten von Patienten verschiedener Krankheitsstadien zeigt sich eine progressive Akkumulation von Lipopigmentgranula in Neuronen, Astrozyten und Makrophagen. Bei zweieinhalb Jahre alten Patienten ist ein Verlust an Neuronen, Myelin und Axonen in der Hirnrinde und der weißen Substanz zu erkennen. Bei vier Jahre alten Patienten sind nur noch wenige Neuronen im Cortex Cerebri übriggeblieben. An Stelle von gesundem Hirngewebe findet man v.a. Astrozyten, die Lipopigmenteinschlüsse enthalten. Große Mengen an intrazellulär angereichertem Lipopigment zeigen die Neuronen des Hirnstammes, der Basalganglien und des Rückenmarkes (HALTIA et al., 1973a/b; SANTAVUORI et al., 1974; ZEMAN, 1976).

Die intrazellulären Lipopigmenteinschlüsse lassen sich bei der infantilen NCL nicht, wie bei allen anderen Formen, mit Luxol Fast Blue darstellen (Lake, 1984). Im Elektronenmikroskop erscheinen sie als osmiophile Zelleinschlüsse mit rundem Querschnitt und granulierter Struktur, die bei spezieller Präparation deutlich Säure-Phosphatase-positiv reagieren. Sowohl die einzelnen Zelleinschlüsse als auch deren Aggregate sind meist von einer "unit-membrane" umgeben (LAKE, 1984). In Hautbiopsien kommen die "lipopigment bodies" vorwiegend in Endothelzellen vor, man findet sie aber auch vereinzelt in Schwann-Zellen, in glatten Muskelzellen, in Epithelzellen der Schweißdrüsen, in Basalzellen der Epidermis und in Fibroblasten (CEUTERICK et al., 1976). Weiterhin enthalten etwa 10% der Lymphozyten des peripheren Blutes, Schilddrüsenepithelzellen, Zellen des exo- und endokrinen Pankreas, der Niere, der Lunge, der Hoden, der quergestreiften Skelettmuskulatur, der Herzmuskulatur, der glatten intestinalen Muskulatur, mesenchymale Zellen der Adventitia kleiner Blutgefäße und Makrophagen von Milz, Leber und Lymphknoten krankheitsspezifische Zelleinschlüsse (HALTIA et al., 1973b; HAGBERG et al., 1974; SIEGISMUND et al., 1982).

2.4. DIE SPÄTINFANTILE NCL

2.4.1. KLINIK

Zunächst zeigen betroffene Kinder eine normale Entwicklung. Im Alter zwischen 18 Monaten und vier Jahren treten plötzlich Anfälle auf. Bisweilen werden bereits vor dem ersten Anfall leichte Lauf- und Sprechstörungen bemerkt. Die Krankheit schreitet nach Einsetzen rasch mit Visusverlust, spastischer Tetraplegie und Bulbärparalyse fort. Die Patienten sterben i.d.R. im Alter von vier bis zehn Jahren (ZEMAN, 1976; LAKE, 1984).

2.4.2. MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE

Das Cerebellum ist am stärksten von der Atrophie betroffen, wenngleich weniger deutlich als bei der infantilen NCL. Patienten mit retardiertem Krankheitsverlauf zeigen im Finalstadium schwerwiegendere atrophische Veränderungen als Patienten mit akzeleriertem Verlauf (ZEMAN, 1976).

2.4.3. HISTOPATHOLOGIE

Die neurohistologischen Veränderungen bei der spätinfantilen Form gleichen denen der infantilen Form weitgehend, sind aber nicht so gravierend. Im Großhirn liegen geringgradige Demyelinisierung und Astrozytose vor (DOLMAN et al., 1972; DE BAECQUE et al., 1976), während im Kleinhirn Abnahme der Purkinjezellen, Schwund der Körnerzellen und eine auffallende Bergmannzellgliose beschrieben sind (ZEMAN, 1976).

Im Elektronenmikroskop erscheinen die Lipopigmenteinlagerungen als relativ uniforme, dicht zusammengelagerte "curvilinear bodies" (LAKE, 1984). Diese charakteristischen Einschlüsse sind u.a. in Herz, Aorta, Lunge, quergestreifter Skelettmuskulatur, Knochenmark, Lymphknoten, Schweißdrüsen, Hypophyse, Nebenniere, Schilddrüse, Leber, Niere und Harnblase beschrieben worden (DOLMAN u. CHANG, 1972; DE BAECQUE

et al., 1976). Der elektronenmikroskopische Nachweis von "curvilinear bodies" in Lymphozyten, intrazellulär und frei vorkommend im Urinsediment und intrazellulär in Nierenbiopsiematerial, trägt zur Diagnose der spätinfantilen NCL bei (DE BAECQUE, 1975).

2.5. DIE JUVENILE NCL

2.5.1. KLINIK

Dieses Leiden wird zwischen dem vierten und dem neunten Lebensjahr manifest. Die Patienten werden gewöhnlich wegen Sehstörungen dem Augenarzt vorgestellt, der zusätzlich zur Grunderkrankung oder auch als alleinigen Befund eine "Retinopathia pigmentosa" diagnostiziert. Im weiteren stellen sich zunächst geringgradige psychomotorische Störungen ein, die sich fortschreitend unter Sprachstörungen, Angstgefühlen und Gliedmaßenkontrakturen verschlimmern. Die Lebenserwartung liegt etwa bei 20 Jahren und ist terminal durch gravierende spastische Tetraplegien charakterisiert (ZEMAN, 1976).

2.5.2. MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE

Großhirn und Kleinhirn sind bei dieser NCL gleichermaßen von Atrophie betroffen, deren Grad proportional mit der Krankheitsdauer zunimmt, jedoch im allgemeinen weniger gravierend als bei der infantilen und der spätinfantilen Form (ZEMAN, 1976; LAKE, 1984).

2.5.3. HISTOPATHOLOGIE

SUZUKI et al. (1968) beschreiben einen nur geringgradigen Verlust von kortikalen Neuronen und eine unverändert erhaltene Schichtung der Großhirnrinde. Später jedoch werden bei der juvenilen NCL und auch bei der Variante der protrahierten

juvenilen Form eine Abnahme von bereits Lipopigment enthaltenden Sternzellen in der Schicht V, Anschwellungen der Axone in der III a b Pyramidenzellschicht auf Grund von Lipopigmentakkumulation und ein schwerwiegender Verlust an Ganglienzellen bei der klassischen Form der juvenilen NCL (BRAAK u. GOEBEL, 1978; 1979) und bei der protrahierten Variante dieser Erkrankung (GOEBEL et al., 1982) demonstriert. Lipopigmentakkumulation wird in Ganglienzellen der Dorsalwurzel des Rückenmarks, in Neuronen des autonomen Nervensystems der Verdauungsorgane und im Nervus fibularis beschrieben (KRISTENSON et al., 1965).

Krankheitsspezifische Zelleinschlüsse zeigen eine recht vielfältige Ultrastruktur. In Neuronen, in Endothel- und Pankreaszellen und in Zellen der glatten intestinalen Muskulatur findet man verschiedene Variationen der "fingerprint bodies", aber auch "curvilinear profiles" (SCHWENDEMANN, 1976). Im Epithel der Schweißdrüsen kommen "fingerprint bodies" und "rectilinear profiles" vor; letztere sehen wie zusammengelagerte gerade oder gebogene Lamellen aus und sind auch in Skelettmuskelzellen vorhanden (O'BRIEN, 1975).

Einige wenige oder auch bis zu 50% der Lymphozyten des peripheren Blutes weisen lichtmikroskopisch leicht erkennbare Vakuolen auf, die bereits vor dem Ausbruch der Symptome vorhanden sind und eine wichtige Rolle bei der Frühdiagnose spielen (SCHWENDEMANN, 1976; LAKE, 1984).

In folgenden Organ- und Gewebeproben von Patienten mit juveniler NCL kann man im Licht- und Elektronenmikroskop krankheitsspezifische Zelleinschlüsse finden: Herzmuskel einschließlich der Zellen des Erregungsleitungssystems, Aorta, distale Sammelrohre der Niere, Milz, Thymus, Lymphknoten, Knochenmark, Hepatozyten, Kupfferzellen, Hypophysenvorderlappen, Schilddrüse und Geschlechtsorgane (KRISTENSON et al., 1965; DAYAN u. TRICKEY, 1970; NAKANO et al., 1979; RESKE-NIELSEN et al., 1981).

2.6. DIE ADULTE NCL

2.6.1. KLINIK

Obwohl diese Form sich gewöhnlich erst im Erwachsenenalter manifestiert, können Verhaltensstörungen, zunehmende Demenz, Ataxien und Anfälle vom Grand-mal-Typ jederzeit vom Kindes- bis zum Erwachsenenalter auftreten. Demenz ist bei der adulten NCL weniger stark ausgeprägt als bei den anderen Formen, jedoch gehören Sprachstörungen zum Krankheitsbild (BOEHME et al., 1971; ZEMAN, 1976).

2.6.2. MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE

Bei der adulten NCL sind die Stirnlappen des Großhirns stärker atrophiert als die übrigen Anteile des Gehirns, wobei bei dieser Form der NCL die Hirnatrophie im Vergleich zu den anderen Formen am schwächsten ausgeprägt ist (ZEMAN, 1970; LAKE, 1984).

2.6.3. HISTOPATHOLOGIE

Neuronaler Verlust und Astrozytose sind in den verschiedenen Schichten der Großhirnrinde nach dem gleichen Muster verteilt, wie von BRAAK und GOEBEL (1978;79) bei der juvenilen NCL beschrieben (GOEBEL et al., 1982). Im Elektronenmikroskop zeigen die Zelleinschlüsse fingerabdruckähnliche, lamelläre oder "kurvilineare" Muster (GOEBEL et al., 1982). Einige Zelleinschlüsse bestehen aus Anhäufungen von osmiophiler Granula und Vakuolen und sind morphologisch nicht von Alterspigment zu unterscheiden (ZEMAN u. SIAKOTOS, 1973; GOEBEL et al., 1982).

2.7. CEROIDLIPOFUSZINOLEN BEI HUND UND KATZE

Im Jahre 1953 beschrieb HAGEN erstmals bei zwei Hunden der Englisch-Setter-Rasse, die an der Universitätsklinik in Oslo vorgestellt worden waren, ein Krankheitsbild, das heute Ceroidlipofuszinose genannt wird. An Hand des Stammbaumes dieser beiden Hunde konnte das erstmalige Auftreten dieser caninen CL (=CCL) rückverfolgt werden. Erkrankte Tiere wurden weiter ingezüchtet. Klinisches Bild, autosomal rezessiver Erbgang und neurohistologischer Defekt unter betroffenen Tieren wiesen so viele Parallelen zur humanen NCL auf, daß diese CCL als Modell zur weiteren Erforschung der humanen neuronalen Ceroidlipofuszinose besonderes Interesse fand (KOPPANG, 1966; 1970; 1973/74).

Abgesehen von der ausführlichen Dokumentation der caninen Ceroidlipofuszinose beim Englischen Setter, wurde ein ähnliches Krankheitsbild auch bei Dalmatinerhunden beschrieben und erforscht (DAHME et al., 1983; MALKUSCH, 1984; GOEBEL u. DAHME, 1985; 1986; GOEBEL et al., 1988).

Weiterhin existiert eine Reihe kasuistischer Publikationen, in denen auf einzelne oder einige wenige Fälle von CL bei Hund und Katze eingegangen wird.

Tabelle III: Fallstudien caniner und feliner CL

Chihuahua	(RAC u. GIESECKE, 1975; JOLLY u. HARTLEY, 1977)
Dackel	(CUMMINGS u. DE LAHUNTA, 1977; VANDEFELDE u. FATZER, 1980)
Saluki	(APPLEBY et al., 1982)
Jugoslawischer Hütehund	(BICHSEL u. VANDEFELDE, 1982)
Cockerspaniel	(WILKIE u. HUDSON, 1982)
Terriermischling	(HOOVER et al., 1984)
Blue Heeler	(CHO et al., 1986; WOOD et al., 1987)
Siamkatzen	(GREEN u. LITTLE, 1974)

2.7.1. KLINIK

Bei den Englisch-Setter-Hunden manifestiert sich das Leiden i.d.R. mit 14-18 Monaten. Dabei zeigen die Tiere zunächst unkoordinierten, steifen Gang und Verschlechterung des Sehvermögens; sie bewegen sich zunehmend ataktisch und leiden unter Konvulsionen. Etwa einen Monat vor ihrem Tod, der i.d.R. mit 20-22 Monaten eintritt, erscheinen die Hunde abgemagert bzw. dehydriert bei verzögertem Pupillarreflex. Kein Tier wurde bisher älter als 26 Monate (KOPPANG, 1973/74; 1982).

Im Alter von sechs Monaten zeigt das EEG betroffener, jedoch noch klinisch unauffälliger Tiere Abweichungen von der Norm in Form von "slow high voltage waves". Nach Manifestwerden der Krankheit verringern sich die Amplituden, und die Wellen werden unregelmäßiger, bis im Finalstadium das EEG kaum mehr von der isoelektrischen Linie abweicht (BURCAR et al., 1977).

Bei den Dalmatinerhunden zeigt sich die CCL bereits im Alter von sechs Monaten. Störungen im Bewegungsablauf gehen einher mit Episoden von Irritation und Panik. Ab dem Alter von neun Monaten verhalten sich die Tiere aggressiv, mit 15 Monaten treten epileptiforme Anfälle und Automutilation auf. Bei 22 Monate alten Tieren, die das Finalstadium erreicht haben, kann man Gewichtsverlust und Desorientiertheit beobachten. Letztere wird durch das Anrennen gegen Wände deutlich. Im ersten ingezüchteten Wurf trat auch Zwergwuchs auf (MALKUSCH, 1984).

RAC und GIESECKE (1975) diagnostizierten Ceroidlipofuszinose bei zwei offenbar nichtverwandten Chihuahuas, welche Visusverlust, Gewichtsabnahme, Bewegungsstörungen, Inkoordination und Tremor des Kopfes zeigten. Bei einem der beiden Hunde konnten weder Corneal- noch Pupillarreflexe ausgelöst werden. Bei einem neuseeländischen Chihuahua wurden ähnliche Symptome beobachtet (JOLLY u. HARTLEY, 1977).

Bei zwei adulten Dackeln mit CCL zeigte eines der Tiere, eine viereinhalb Jahre alte Hündin, langsam fortschreitende Ataxie

(CUMMINGS u. DE LAHUNTA, 1977), das andere Tier, eine sieben Jahre alte Hündin, paroxysmale epileptiforme Anfälle, Polyphagie, Polydypsie und langsam fortschreitende Bewegungsstörungen (VANDEFELDE u. FATZER, 1980).

Bei einem einjährigen männlichen Jugoslawischen Hütehund mit CCL wurden Episoden von Panik und Tremor sowie intermittierende Manegebewegungen beobachtet. Das Tier starb mit 23 Monaten, nachdem es eine "Verlangsamung der Kaubewegungen", Aggressivität, Visusverlust, Apathie und Tachykardie entwickelt hatte (BICHSEL u. VANDEFFELDE, 1982).

Im Alter von einem Jahr zeigten ein männlicher und ein weiblicher Saluki, die aus miteinander verwandten Würfen stammten, Hyperästhesie, Inkoordination und abnehmendes Sehvermögen. Die Symptome verstärkten sich, bis schließlich Nacken- und Gliedmaßenmuskulatur völlig gelähmt waren (APPLEBY et al., 1982).

Bei einem an CCL erkrankten 18 Monate alten Cockerspanielrüden, dessen propiozeptive Reflexe verzögert waren, wurden Ataxie, Irritation und Aggressivität beschrieben (WILKIE u. HUDSON, 1982).

Ein männlicher Terriermischling mit CCL, der mit neun Monaten euthanasiert wurde, hatte vom vierten Monat an aggressives Verhalten, Manegebewegungen und Kopftremor gezeigt (HOOVER et al., 1984).

Ein 18 Monate alter CCL-kranker Blue Heeler wurde mit Verhaltens- und Bewegungsstörungen sowie Parästhesie, abnehmendem Sehvermögen und Apathie vorgestellt (CHO et al., 1986). Ähnliche Symptome wurden bei zwei Wurfgeschwistern einer australischen Blue-Heeler-Linie beschrieben (WOOD et al., 1987).

CL wurde schließlich auch bei zwei nicht miteinander verwandten Siamkatzen diagnostiziert. Der männliche, 22 Monate alte Kastrat, der mit Photophobie, Irritabilität, Hyperästhesie und Konvulsionen vorgestellt wurde, starb drei Wochen später. Das weibliche Tier zeigte Visusverlust, Irritabilität und Schwäche der Hinterhand (GREEN u. LITTLE, 1974).

2.7.2. MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE

Die weniger spezifischen Befunde im Krankheitsfrühstadium beim Englischen Setter sind geringgradige Schwellung der Lymphknoten, Auszehrung und leichte Dehydrierung.

Die Hirne von über 20 Monate alten CCL-Tieren dieser Rasse erreichen nur noch 60-70% des Hirngewichtes gleichalter gesunder Tiere. Neben der deutlichen Atrophie fallen Verdickung der Dura, Erweiterung der Ventrikel und gelbbraunliche Verfärbung der Hirnrinde auf (KOPPANG, 1970; 1973/74; 1982).

Ähnliche makroskopische Befunde sind bei den zwei o.g. Dackeln, bei dem Jugoslawischen Hütehund und dem Terrier-mischling dokumentiert.

Eine braune Pigmentierung des Pankreas und des gesamten Verdauungstraktes wurde bei dem zitierten Cockerspaniel vorgefunden. Demgegenüber wurden bei den gen. Salukis, Chihuahuas und Siamkatzen keine makroskopischen Veränderungen festgestellt.

2.7.3. NEUROHISTOPATHOLOGIE

Elektronenmikroskopisch wurden krankheitsspezifische Zelleinschlüsse im Gehirn eines zwei Monate alten Welpen und sogar eines Feten gefunden. Der jüngste CCL-positive Englische Setter, bei dem eine lichtmikroskopische Diagnose gestellt werden konnte, war zweieinhalb Monate alt. Bei drei Monate alten Hunden enthalten etwa 30% der Neuronen, bei sechs Monate alten bereits alle Neuronen des Gehirns krankheitsspezifische Lipopigmenteinlagerungen. Im Alter von 12-14 Monaten kommt es zu fortschreitendem Verlust von Neuronen. Die graue Substanz der Kernregionen des Gehirns ist bei 20 Monate alten und älteren Tieren weitgehend zerstört. Bei diesen Tieren enthalten Astrozyten und Endothelzellen der Hirnkapillaren massive Lipopigmentanreicherungen, während einige der überlebenden Neuronen lipopigmentfrei erscheinen. In die außerhalb des ZNS gelegenen Nervenzellen werden bis zum Alter von etwa einem Jahr zunehmende Mengen an Lipopig-

ment eingelagert; in diesem Stadium scheint der Prozeß der Lipopigmentanreicherung zum Stillstand zu kommen, und ein weiterer Zelluntergang kann nicht festgestellt werden (KOP-PANG et al., 1973/74; 1982).

Ähnliche neurohistopathologische Befunde wie bei Englischen Settern sind bei an CCL erkrankten Dalmatinern dokumentiert (MALKUSCH, 1984).

Die zitierten Chihuahuas und Salukis sowie die viereinhalbjährige Dackelhündin, der Jugoslawische Hütehund und der Cockerspaniel zeigten eine Lipopigmentakkumulation in den Purkinjezellen des Kleinhirns, während in der Körnerzellschicht kaum Lipopigment angereichert wurde. In den Neuronen der spinalen Dorsal- und Ventralhörner des Cocker-spaniels wurden ebenfalls massive Lipopigmentakkumulationen gesehen.

Im Gegensatz zu der oben dargestellten Lipopigmentverteilung im Kleinhirn bestand bei der siebenjährigen Dackelhündin eine massive Atrophie und Lipopigmentanreicherung bei den noch vorhandenen Körnerzellen, während die Purkinjezellen unauffällig waren.

Bei dem erkrankten Terriermischling sind Lipopigmentakkumulation in Neuronen und Makrophagen in allen Bereichen des Gehirns beschrieben sowie Untergang von Neuronen und perivaskuläre Rundzellreaktionen.

Bei den Siamkatzen mit feliner CL sind in den Perikarya der Großhirnrinde und in den Purkinjezellen des Kleinhirns Sudan-Schwarz-B-, PAS-, Luxol-Fast-Blue- und Öl-Rot-O-positive Zelleinschlüsse dokumentiert sowie eine milde, diffuse Mikroglie in der Großhirnrinde und der Medulla oblongata.

2.8. CEROIDLIPOFUSZINOSE BEI WIEDERKÄUERN

READ und BRIDGES berichteten im Jahr 1969 von einer erblich bedingten Speicherkrankheit bei einer ingezüchteten Linie der Fleischrinderrasse "Beefmaster", die sie neuronale Lipodystrophie nannten und die klinische, licht- und elektronenmikroskopische Merkmale aufwies, welche mit denen der

humanen CL vergleichbar erschienen.

Eine auch als Xanthomatose bezeichnete lysosomale Thesauris-mose kommt bei 0,1-0,5% aller geschlachteten Rinder vor, häufiger bei Hochleistungskühen der Milchrasen und besonders häufig bei Ayrshire-Rindern. Man versteht darunter die Anreicherung eines morphologisch vom Alterspigment nicht zu unterscheidenden gelbbraunen bis bronzefarbenen Lipopigmentes in Herz- und Skelettmuskulatur und häufig auch in der Nebennierenrinde und in dem distalen Teil der Tubuli contorti der Niere. Diese ist ohne klinische Auswirkungen und als Zufallsbefund zu werten (DUFFEL u. EDWARDSON, 1978; HAYWARD, 1978; BRADLEY u. DUFFEL, 1982; JUBB u. KENNEDY, 1985).

Beim Schaf wurde die CL erstmals im Jahre 1976 von JOLLY und WEST diagnostiziert und zwar bei einer Linie der Southhamshire-Rasse, die durch weitere Inzuchtung der Kreuzung aus Southdown-Schafen mit Hampshiredown-Schafen entstanden war. Die Southhamshire-Rasse wurde entwickelt, um Vattertiere für terminale Kreuzungen mit anderen Fleischrasen zu liefern, die letztlich der Produktion von Schlachtlämmern dienen sollten. Da die Southhamshire-Rasse also nur innerhalb eines Hybridprogrammes genutzt wird, ist es sehr unwahrscheinlich, daß die erblich bedingte ovine CL (=OCL) in Neuseeland jemals wirtschaftliche Bedeutung erlangen wird.

Die OCL hat jedoch viele Züge gemeinsam mit der humanen CL, speziell mit der juvenilen Form, und dient daher bei der Erforschung der noch immer rätselhaften Pathogenese dieser gesamten Gruppe erblich bedingter lysosomaler Speicherkrankheiten als gutes Tiermodell.

Ferner wurde kürzlich über das Vorkommen von CL bei zwei miteinander verwandten nubischen Ziegen berichtet (FISKE u. STORTS, 1988). Eine zwei Jahre alte Ziege wurde wegen fortschreitender Ataxie und einer sich über sechs Monate hinziehenden Hinterhandschwäche euthanasiert. Bei der anderen Ziege traten im Alter von zehn Monaten Verhaltens- und Bewegungsstörungen mit progressiven Ataxien und Paresen auf, so daß im Alter von vier Jahren die Tötung erfolgte. Auf Grund

der für CL typischen neurohistopathologischen Befunde konnte bei beiden Ziegen die Diagnose gestellt werden.

2.8.1. KLINIK DER OCL

Ab einem Alter von sieben Monaten zeigen die Lämmer die ersten klinischen Symptome. Sie halten ihren Kopf hoch und bewegen ihn von einem Gesichtsfeld zum anderen. Der Drohreflex ist verzögert, der Pupillarreflex hingegen normal. Diese Symptomatik läßt darauf schließen, daß die frühzeitige Einschränkung des Sehvermögens zentral bedingt ist. Der Untergang kortikaler Neurone, der histologisch bereits bei fünf Monate alten Lämmern erkennbar ist, untermauert diesen Rückschluß.

Bei neun Monate alten OCL-Schafen ist der Drohreflex nicht mehr auslösbar. Verzögert sind der Schreckreflex auf akustische und visuelle Stimuli, der Pupillarreflex und der Blinzelreflex bei plötzlichem Lichteinfall. Der Visusverlust in diesem Stadium ist nicht nur zentral, sondern wohl auch peripher bedingt. Letzteres kann man aus den Veränderungen der Retina ableiten (siehe 2.9.1.6.).

Erkrankte Schafe im Alter von zehn bis zwölf Monaten zeigen Apathie und sondern sich von der Herde ab. Sie sind nahezu blind und weichen Hindernissen nicht mehr aus, fressen und trinken langsamer als gesunde Artgenossen, und die Futteraufnahme ist von Episoden hastigen Leerkauens unterbrochen. OCL-positive, 18 Monate alte oder ältere Schafe sind völlig blind. Sie haben weite Pupillen, und der Pupillarreflex ist kaum mehr auslösbar. Anfallsweise tritt Tremor des Kopfes, der Gesichts- und Nackenmuskulatur, der Lippen, der Augäpfel und gelegentlich auch der Vordergliedmaßen auf. Diese Tremoranfälle können ausgelöst werden, wenn man die Tiere einfängt, sie untersucht oder auch nur ihren Kopf tätschelt. Nach Verabreichung von Antikonvulsiva kann Tremor nicht mehr ausgelöst werden. Aus diesem Grund werden die Tremor-Episoden mit partiellen symmetrischen Krampfanfällen verglichen, die

bei NCL-kranken Kindern und Jugendlichen auftreten (MAYHEW et al., 1985; SHIMADA, 1987).

2.8.2. MAKROSKOPISCHE PATHOLOGIE DER OCL

Die Hirne neugeborener OCL-positiver Lämmer sind makroskopisch ohne besonderen Befund. Im Alter von vier Monaten setzt jedoch eine progressive Hirnatrophie ein, die von den Parietallappen her beide Großhirnhemisphären erfaßt. Hirnstamm und Kleinhirn sind vergleichsweise weniger atrophiert. Die Hirne von 26-30 Monate alten Schafen im Finalstadium der OCL haben nur noch etwa 55% des durchschnittlichen Hirngewichtes gesunder Schafe. An Hirnquerschnitten kann man auch Atrophie der weißen Substanz, einschließlich Corpus Callosum, erkennen. Diese Albi erscheinen verfestigt und leicht gelbbräunlich verfärbt. Die Seitenventrikel sind erweitert (MAYHEW et al., 1985; SHIMADA, 1987).

2.8.3. LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE SOWIE BIOCHEMISCHE MERKMALE DER OCL

Die für OCL typischen intrazellulär angereicherten Lipopigmente erscheinen im Lichtmikroskop als Sudan-Schwarz-B-, Luxol-Fast-Blue- und PAS-positive Granula, die sich bei dreistündiger Ziehl-Neelsen-Färbung als säurefest darstellen, aber mit der Schmorlschen Färbung negativ reagieren und in frischen Gefrierschnitten und ungefärbten Paraffinschnitten bei Exzitation mit UV-Licht gelb fluoreszieren (JOLLY et al., 1985; SHIMADA, 1987).

Die chemische Analyse ergab, daß der Proteinanteil des aus den Zellen isolierten hydrophoben Lipopigmentkomplexes 65-75% beträgt, der Anteil an Neutralfetten und Phospholipiden 27% und der Metallanteil 1,7-2% . Der Restanteil besteht aus Kohlenhydraten (PALMER et al., 1986a,b; 1988a).

Das Leberlipopigment, das aus Leberpräparaten von OCL-kranken Schafen isoliert worden ist, enthält ebenso wie die Leberlysosomen gesunder Individuen einen höheren Anteil an Metallen

als die aus anderen Organen kranker Tiere isolierten Lipopigmente. Ein hoher Anteil der in der Leber gespeicherten Metalle liegt nämlich lysosomal gebunden vor. Der Metallanteil des krankheitsspezifischen Lipopigmentes läßt somit darauf schließen, daß die "storage-bodies" funktionell den Lysosomen zuzuordnen sind (PALMER et al., 1988a), woran morphologisch ohnehin nie Zweifel bestanden haben.

Im Elektronenmikroskop erscheinen die gespeicherten Lipopigmente als unregelmäßig geformte Gebilde mit einem Durchmesser von etwa 0,2-1µm, wobei die größeren offensichtlich durch Zusammenlagerung mehrerer kleinerer entstanden sind. Die Zahl und die Größe dieser Zelleinschlüsse nehmen mit fortschreitender Krankheitsdauer zu.

Im ZNS findet man "storage-bodies" vorwiegend in Neuronen, aber auch in Endothelzellen, in Astrozyten und Makrophagen. Auch in Zellen vieler anderer Gewebe sind bei erkrankten Schafen "storage-bodies" anzutreffen.

Die innere elektronendichte Struktur der Zelleinschlüsse variiert von granulär bis lamellär. Die Lamellen sind in Form von fingerabdruckartigen, kristalloiden oder tubulären Mustern angeordnet. Weniger elektronendichte Vakuolen, die charakteristisch für die Ultrastruktur von Alterspigment sind, kommen bei OCL-positiven Geweben sehr selten vor.

Der eindeutige Nachweis, ob ein neugeborenes Lamm OCL-positiv ist, gelingt nur im Elektronenmikroskop. Bei einem Lamm, das von heterozygoten Elterntieren abstammte und bei der Geburt gestorben war, wurden im Gehirn vereinzelt winzige Sudan-Schwarz-B-positive Einschlüsse in kortikalen Neuronen gefunden. Elektronenmikroskopisch gelang die sichere Diagnose durch den Nachweis intraneuronaler, multilamellärer Einschlusskörper. Nach der Geburt schreitet der Prozeß der intrazellulären Akkumulation von Lipopigmenten in Zellen des ZNS offenbar rasch voran. Neuronale Perikarya lagern große Mengen an Lipopigmenten ein und werden nekrotisch, während Astrozyten und Makrophagen reichlich krankheitsspezifische Zytosomen sowie heterogenes Material enthalten.

Neuronen der zerebellaren Körnerschicht und der unteren Olive lagern weniger Lipopigment ein als Neuronen anderer ZNS-Bereiche. Intrazelluläre Anreicherung von Lipopigmenten und Untergang von Neuronen kann bereits bei OCL- positiven Lämmern ab dem Alter von zweieinhalb Monaten festgestellt werden und ist von zytoarchitektonischen Veränderungen begleitet. Fibrilläre Astrozytosen breiten sich vom Parietal- über den Frontal-, den Okzipital- und den Temporallappen aus, und entsprechend nimmt in diesen Regionen auch die Zahl der Makrophagen zu. In histologischen Rindenquerschnitten von erkrankten Lämmern verschiedener Altersstufen kann man erkennen, daß der neuronale Untergang in der Mitte des Isokortex beginnt und allmählich auf die gesamte Hirnrinde übergreift, so daß in späten Stadien nur noch wenige große Pyramidenzellen in tieferen Rindenarealen übrig sind. Die in den oberflächlichen Rindenarealen vereinzelt noch vorhandenen Neuronen sind auf Grund des Schwundes von umliegendem Nervengewebe fokal zusammengeklumpt. Veränderungen in der weißen Substanz sind weniger gravierend.

Die oben beschriebenen degenerativen und regenerativen Veränderungen sind histologisch vorwiegend im Großhirn diagnostizierbar, während Kleinhirn, Rückenmark, Brücke und Medulla oblongata weit weniger betroffen sind (SHIMADA, 1987).

Im Finalstadium kann eine Einlagerung von relativ wenig Lipopigment in vegetativen Neuronen des Intestinums und in anderen peripheren Neuronen des autonomen Nervensystems festgestellt werden (JANMAAT, 1979).

2.9. ZUR VERGLEICHENDEN PATHOLOGIE DER CEROIDLIPOFUSZINOLEN

2.9.1. VERÄNDERUNGEN AM AUGE BEI MENSCH UND TIEREN

Bei der humanen CL können pathohistologische Befunde am Auge nur im Finalstadium festgehalten werden, wenn die Patienten (ausgenommen die an der adulten Form der CL Leidenden) bereits erblindet sind. Daher gleichen sich die licht- und elektronenmikroskopischen Befunde bei der infantilen

(TARKKANEN et al., 1972), der spätinfantilen und der juvenilen (GOEBEL et al., 1974) Form. Die Retina-Atrophie betrifft am stärksten die Photorezeptorzellen. Auch alle übrigen Zellen der Retina und des Pigmentepithels reichern Lipopigmente an, und die gesamte Retina zeigt im histologischen Querschnitt Veränderungen, die denen bei Retinopathia pigmentosa sehr ähnlich sind (GOEBEL et al., 1982).

Bei CCL und OCL wurde die Möglichkeit genutzt, Befunde am Auge von unterschiedlichen Stadien der Erkrankung auszuwerten, jedoch nur bei der ovinen Erkrankung ist sowohl der klinische Verlauf der Erblindung als auch der histologische Retinabefund im Finalstadium vergleichbar mit den bei der juvenilen Form der humanen CL beschriebenen klinischen und histologischen Veränderungen am Auge. Daher dienten OCL-positive Schafe verschiedener Altersstufen als hier einschlägiges Tiermodell.

Visusverlust tritt bei der CCL des Englischen Setters und des Dalmatiners erst relativ spät auf, und die pathohistologischen Befunde beschränken sich auf Lipopigmentakkumulation in allen Zelltypen der Retina einschließlich der Zellen des retinalen Pigmentepithels.

Gravierende Atrophie der Retina, wie sie bei der infantilen, der spätinfantilen und der juvenilen humanen CL und auch bei der ovinen Form beschrieben sind, kommen bei der CCL nicht vor (GOEBEL et al., 1983; MAYHEW et al., 1985).

2.9.1.1. OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER INFANTILEN CL DES MENSCHEN

Bei der infantilen Form der CL bzw. NCL ist Visusverlust das zweite markante Symptom, welches bald nach den ersten psychomotorischen Störungen auftritt. Klinisch ist makuläre und generalisierte Degeneration des optischen Fleckes feststellbar. Bereits bei zwei bis drei Jahre alten Patienten zeigt das Elektroretinogramm keine Potentialdifferenzen mehr

an. Lichtmikroskopisch fällt ein nahezu vollständiger Schwund der Retina auf (SANTAVUORI et al., 1974; HALTIA, 1987).

2.9.1.2. OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER SPÄTINFANTILEN CL DES MENSCHEN

Bei der spätinfantilen Form setzt rapider Visusverlust bald nach dem Auftreten der ersten Anfälle ein.

Im Endstadium dominiert lichtmikroskopisch die Retina-Atrophie mit vollständigem Schwund der Photorezeptorzellen. Im Elektronenmikroskop zeigen die Zellen der Retina und des Pigmentepithels lysosomale Speicherungen von Pigmentmaterial mit vorwiegend kurvilinearem Profil (TARKKANEN et al., 1972; GOEBEL et al., 1983).

2.9.1.3. OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER JUVENILEN CL DES MENSCHEN

Hier sind Visusverlust und Retinopathia pigmentosa die frühesten Befunde, die klinisch erhoben werden können.

Autoptische Retinaproben zeigen im histologischen Schnitt eine extreme Atrophie aller Zellen. Im Elektronenmikroskop werden die unregelmäßigen Muster der Lipopigmentzeleinschlüsse sichtbar, die aber nicht die sonst bei der jugendlichen Form vorherrschenden fingerabdruckartigen Lamellenprofile aufweisen (TARKKANEN et al., 1972).

2.9.1.4. OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER ADULTEN CL DES MENSCHEN

Visusverlust ist kein für die adulte Form der NCL typisches Symptom, jedoch kann histologisch Lipopigmentakkumulation in allen Zelltypen der Retina festgestellt werden (DOM et al., 1979).

2.9.1.5. OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER CL DES HUNDES (CCL)

Englisch-Setter-Hunde zeigten im Endstadium der CCL eine Verzögerung des Pupillarreflexes. Im Elektroretinogramm ist die Amplitude der b-Welle leicht abgeschwächt, und an Stelle der c-Welle erscheint ein negatives Potential. Das histopathologische Bild ähnelt dem der adulten Form des Menschen, d.h. Akkumulation von Lipopigmenten mit lamellären, fingerabdruckartigen oder kurvilinearen Profilen kommt in allen Zelltypen der Retina vor, während Degeneration und Verlust von Photorezeptorzellen nicht beobachtet wurden. Zellen des retinalen Pigmentepithels weisen nur bei der CCL des Englischen Setters und des Dalmatiners charakteristische zirkuläre und semizirkuläre Einschlüsse auf, die weder bei humanen Formen noch bei der ovinen Form beobachtet wurden (GOEBEL et al., 1979a; 1983; GOEBEL u. DAHME, 1985; 1986).

2.9.1.6. OPHTHALMOPATHOLOGISCHE BEFUNDE BEI DER CL DES SCHAFES (OCL)

MAYHEW et al. (1985) studierten die Pathogenese der Erblindung an OCL - positiven Schafen verschiedener Altersgruppen. Visusverlust ist das erste wahrnehmbare Symptom, ähnlich wie bei der juvenilen Form der humanen CL. Der früh, d.h. bei etwa sieben Monate alten Tieren eintretende Visusverlust ist zunächst zentral bedingt (siehe 2.8.1.), schreitet aber infolge von Pigmentspeicherungen in der Neuroretina rasch fort. Dystrophien der Außensegmente der Stäb-

chen- und Zapfenzellen gehen dem Untergang dieser Zellen voraus. Lichtmikroskopisch stellt sich dies als progressiver Verlust der Zellkerne der äußeren Körnerschicht dar. Im Finalstadium sind im Elektronenmikroskop nur noch einige wenige Zapfenzellen zu erkennen. Die Zellen der weiter innen liegenden Schichten der Neuroretina zeigen außer einer bereits lichtmikroskopisch erkennbaren Einlagerung von Lipopigment keine Veränderungen.

Im retinalen Pigmentepithel sind die intrazellulären Pigmenteinlagerungen nur im Elektronenmikroskop sichtbar (GRAYDON u. JOLLY, 1984; MAYHEW et al., 1985).

Elektroretinogramme bei Tieren verschiedener Altersgruppen zeigen, daß einer Abnahme der Amplitude der c-Welle eine progressive Abnahme der Amplituden von a- und b-Welle folgt. Schließlich wird die c-Welle durch ein negatives Potential ersetzt. Die Interpretation der Elektroretinogramme erfolgte an Hand der oben beschriebenen licht- und elektronenmikroskopisch feststellbaren Veränderungen (GRAYDON 1984; GRAYDON u. JOLLY, 1984; MAYHEW et al., 1985).

2.9.2. VERGLEICHENDE PATHOLOGIE EXTRANEURALER GEWEBE BEI OCL UND CCL

Die meisten histopathologischen Darstellungen der CL beschränken sich auf Veränderungen im Nervengewebe (=NCL), da die krankheitsspezifischen Symptome durch Störungen und Ausfallerscheinungen im Nervensystem hervorgerufen werden. Die CL ist jedoch ein generalisiertes bzw. polysystemisches Leiden, bei dem nahezu alle Gewebe in unterschiedlichem Ausmaß krankheitsspezifische Lipopigmente akkumulieren. Die extraneurale Verteilung intrazellulärer Lipopigmente ist sowohl bei der CCL des Englischen Setters als auch bei der OCL des Southhamshire - Schafes dokumentiert (KOPPANG et al., 1973/74; JANMAAT, 1979) und ist in Tabelle IV dargestellt.

Tabelle IV:

Vergleichende Darstellung der in extraneuralen Geweben gefundenen Lipopigmente bei der CL des Southhamphshire-Schafes und des Englischen Setters.

Da das normalerweise mit zunehmendem Alter in einigen Geweben sich anreichernde Lipofuszin fluoreszenzmikroskopisch dargestellt werden kann und auch PAS- und Sudan-Schwarz-positiv reagiert, können bei einem Vergleich von Geweben aus CL-Fällen mit Kontrollgeweben nichtbehafteter Tiere nur signifikant erhöhte Mengen an intrazellulär akkumuliertem Lipopigment als krankheitsspezifisch definiert werden.

OCL

CCL

Lymphknoten und Milz

Große mononukleäre Zellen erkrankter erwachsener Schafe enthalten wesentlich mehr Lipopigment als jene von Kontrolltieren.

Kurz nach der Geburt sind sowohl bei CL-positiven Hunden als auch bei Kontrolltieren fluoreszierende Granula in verschiedenen Zelltypen dieser Organe nachweisbar.

Haut

Bei vier bis fünf Monate alten Lämmern kann krankheitsspezifisches Lipopigment im Epithel von Schweißdrüsen dargestellt werden.

Nur bei CL-positiven Hunden sind autofluoreszierende, sudanophile Lipopigmentgranula in Haarfollikel- und vereinzelten Epidermiszellen vorhanden.

Herz

Herzmuskel- und Purkinjefasern OCL-positiver zwölf Monate alter und älterer Schafe zeigen deutlich größere Mengen an eingelagertem Lipopigment als diejenigen gleichalter Kontrolltiere.

In Herzmuskelzellen von sechs Monate alten CL-positiven Hunden befinden sich im perinukleären Bereich vermehrt kleine Lipopigmentgranula.

Skelettmuskel

In Skelettmuskelzellen befinden sich weder bei kranken noch bei gesunden ein bis zwei Jahre alten Schafen Lipopigmentgranula.

Bei 12 - 14 Monate alten Englisch - Setter - Hunden beginnt mit dem Einsetzen der Symptome v.a. in der Augenmuskulatur, aber in geringem Maße auch in der Skelettmuskulatur Lipopigmentmaterial zu akkumulieren.

Lunge

Im Epithel des Respirationstraktes von gesunden und von OCL-positiven Schafen wurden Lipopigmente nachgewiesen.

Bei CCL-Hunden nimmt in den Epithelzellen des Respirationstraktes nur die Anzahl, aber nicht die Größe der Lipopigmentgranula mit dem Alter zu.

Digestionsapparat

Im Epithel von Speiseröhre, Vormägen, Labmagen und Darmtrakt konnten keine Lipopigmenteinlagerungen festgestellt werden. Vereinzelt Lipopigmentgranula finden sich in glatten Muskelzellen sowie im Epithel der Speicheldrüsen.

Lipopigmentgranula wurden im Kryptenepithel und in glatten Muskelzellen des Gastrointestinaltraktes CCL-positiver Hunde gefunden, ebenso auch im Speicheldrüsenepithel.

Leber

Hepatozyten sowie Kupfferzellen erkrankter ausgewachsener Schafe enthalten wesentlich größere Mengen feiner Lipopigmentgranula als die entsprechenden Zellen von Kontrolltieren. Im Gallengangsepithel konnte keine Lipopigmenteinlagerung festgestellt werden.

Hepatozyten erkrankter Hunde enthalten kleine Mengen feiner Lipopigmentgranula, während Kupfferzellen sowohl von kranken als auch von Kontrolltieren autofluoreszierende, eisenhaltige Pigmentgranula speichern.

Bauchspeicheldrüse

Exokrine und endokrine Zellen OCL-positiver Schafe enthalten feine, autofluoreszierende, Sudan-Schwarz- und PAS-positive Granula.

Endokrine Zellen von Kontrolltieren sind angefüllt mit Sudan-Schwarz- und PAS-positivem, aber nicht autofluoreszierendem Material.

Bei CCL-positiven Hunden lassen sich ab dem sechsten Lebensmonat in Pankreasepithelzellen vereinzelte Lipopigmentgranula nachweisen, die mit dem Alter der Tiere an Größe zunehmen.

Niere

Bei OCL-positiven und bei Kontrolltieren befindet sich granuläres PAS- und Sudan-Schwarz-positives Material im Epithel von Tubuli und Sammelrohren, jedoch autofluoreszieren diese Granula nur bei OCL-positiven Tieren unter UV-Licht.

Im Tubuliepithel der Henleschen Schleife sowie der Tubuli contorti und der Sammelrohre befinden sich bei sechs Monate alten CCL-positiven Hunden autofluoreszierende Pigmente, deren Menge mit dem Alter der Tiere signifikant zunimmt.

Nebenniere

Bei ausgewachsenen OCL-positiven Schafen befinden sich autofluoreszierende Lipopigmentgranula in Zellen von Mark und Rinde.	Beim Einsetzen der ersten Symptome hat sich bereits in Mark- und Rindenzellen Lipopigmentmaterial angereichert.
---	---

Schilddrüse

Bei zwölf Monate alten und älteren OCL-positiven Schafen sind in Follikelepithelzellen geringe Mengen autofluoreszierender Lipopigmentgranula vorhanden.	Die Follikelepithelzellen erkrankter 12 - 14 Monate alter Hunde haben bereits signifikante Mengen an Lipopigment eingelagert.
--	---

Hypophyse

Bei zwölf Monate alten und älteren OCL-positiven Schafen sind in den Zellen der Adenohypophyse autofluoreszierende Lipopigmentgranula vorhanden.	Nicht untersucht
--	------------------

Männliche und weibliche Geschlechtsorgane

Während bei Kontrollschafen nur das Drüsenepithel der Samenblase PAS-positiv reagiert, zeigen OCL-positive Tiere ab dem Alter von einem Jahr in Spermatogonien, Sertolizellen und Samenblasenepithelzellen Einlagerung von autofluoreszierendem, PAS- und Sudan-Schwarz-positivem Lipopigment. Im Ovargewebe kranker Schafe enthalten nur Makrophagen krankheitsspezifische Zeileinschlüsse.	Nur bei CCL-kranken, etwa einjährigen Hunden sind autofluoreszierende Lipopigmenteinlagerungen in Epithelzellen von Hoden, Nebenhoden, Ductus deferens und Prostata nachweisbar, die in den beiden letztgenannten Organen mit dem Alter stark zunehmen.
--	---

Hämatopoietisches System

Blut- und Knochenmarkszellen	Lymphozyten CCL-positiver Eng-
OCL-positiver Schafe sind	glisch - Setter - Hunde
ohne besonderen Befund.	zeigen Vakuolisierung (GOE-
	BEL et al., 1982).

2.10. BISHER DISKUTIERTE MECHANISMEN DER PATHOGENESE DER CL

Der der CL zugrunde liegende Defekt ist noch nicht gefunden, und die einschlägigen Krankheitsbilder werden weiterhin in die Gruppe der Lipidosen bzw. lysosomalen Speicherkrankheiten eingeordnet (LAKE, 1984). Bei der Erforschung der Pathogenese hat man sich daher hauptsächlich auf mögliche Störungen im Lipidstoffwechsel konzentriert.

2.10.1. LIPIDPEROXIDATION ALS MÖGLICHER AUSLÖSENDE FAKTOR

2.10.1.1. MÖGLICHE ENZYMDEFEKTE IN DER GRUPPE DER PEROXIDASEN BEI DER CL

ZEMAN vertrat 1970 die Ansicht, das gespeicherte Lipopigment sei möglicherweise ein peroxidiertes Lipid, und seine Akkumulation werde durch die mangelhafte Enzymaktivität einer Peroxidase verursacht. ZEMAN (1974) führte seine "Theorie der Lipidperoxidation" weiter aus und veranlaßte Therapieversuche mit Antioxidantien bei CL-Kranken. Seitdem haben mehrere Autoren einen Mangel an leukozytären oder anderen Peroxidasen bei an infantiler und spätinfantiler (AWASTHI et al., 1977; DEN TANDT u. MARTIN, 1978) sowie auch bei an juveniler CL Leidenden (ARMSTRONG et al., 1975; DEN TANDT u. MARTIN) beschrieben. Bei der CCL deuteten Meßergebnisse darauf hin, daß der Mangel an leukozytärer Peroxidase mit einem Peroxidase-mangel im Epithel von Retina und retinalem Pigmentepithel assoziiert sein könnte (ARMSTRONG et al., 1980).

Diese kurz mit "Peroxidasetheorie" bezeichnete Hypothese hat einer gründlichen experimentellen Überprüfung nicht standhalten können. Weitergehende Studien haben gezeigt, daß ein partieller Mangel an freier intrazellulärer Peroxidase häufig mit einer Erhöhung der in subzellulären Kompartimenten gebundenen Peroxidase einhergeht (SIAKOTOS et al., 1978). Meßergebnisse der isoelektrischen Fokussierung von Peroxidasespiegeln in Speichel (PILZ et al., 1976), Speicheldrüsengewebe (PILZ u. GOEBEL, 1977) und in Leber- und Hirngewebe (GARG et al., 1982) erbrachten einander entsprechende Werte bei NCL-Patienten und Gesunden. Einige Menschen, bei denen ein Mangel an leukozytärer Peroxidase eindeutig festgestellt worden war, erwiesen sich gegenüber Infektionserregern als weniger widerstandsfähig, aber sie entwickelten nicht das Krankheitsbild der CL (GABIG, 1980).

2.10.1.2. MÖGLICHE PATHOGENETISCHE BEDEUTUNG FREIER RADIKALE FÜR DIE CL

ARMSTRONG und VISTNES (1986) sehen die für CL charakteristischen intrazellulär angereicherten Lipopigmente als Endprodukte von Radikalkettenreaktionen. Die genetisch verankerte Überempfindlichkeit gegenüber freien Radikalen und deren Reaktionsprodukten könnte durch mangelhafte Abfangmechanismen bedingt sein.

Freie Radikale kommen in allen Geweben vor und können mehrfach ungesättigte Fettsäuren attackieren, so daß sich Proteolipidradikale in Membranen bilden, welche sich zu Hydroperoxiden umformen. Eine Serie von solchen peroxidativen Reaktionen könnte zur Entstehung von nicht weiter abbaubaren autofluoreszierenden Lipopigmenten führen (CHIO u. TAPPEL, 1969; ZEMAN, 1974).

Tatsache ist, daß vorgeschädigte Zellen leichter peroxidieren als gesunde. GUTTERIDGE (1985) sah die Peroxidation zellulärer Lipide daher als Folge einer vorausgehenden Zellschädigung an.

Obwohl die therapeutische Anwendung von Antioxidantien und Radikalfängern bei einigen an CL Leidenden das Fortschreiten des Krankheitsablaufes im Anfangsstadium etwas zu verzögern schien (WESTERMARCK u. SANTAVUORI, 1984), konnte doch keine signifikante Besserung oder gar Heilung erreicht werden (GADOTH, 1978; ZEMAN u. RIDER, 1975; SANTAVUORI et al., 1988).

2.10.1.3. MÖGLICHE PATHOGENETISCHE BEDEUTUNG VON EISENSTOFF- WECHSELSTÖRUNGEN FÜR DIE CL

Bei an infantiler und juveniler NCL leidenden Patienten wurden in der Zerebrospinalflüssigkeit erhöhte Werte an proteingebundenem Eisen und auch an Gesamteisen gemessen (JOHANSSON et al., 1984). Eisen und Kupfer sind in der Lage, Peroxidationsreaktionen auszulösen. Sie sind außerdem in Lipopigmenten enthalten. GUTTERIDGE et al. (1983) vermuten, ein Defekt im Eisenstoffwechsel könne das Gewebe der schädigenden oxidativen Wirkung der Metalle schutzlos ausliefern. 1985 diskutierte GUTTERIDGE die Möglichkeit, daß durch eine primäre Zellschädigung vermehrt freies Eisen in die Zelle gelange, welches schließlich Lipidperoxidation verursachen könnte. Freie Radikale könnten zunächst die Entstehung von Lipidhydroperoxiden begünstigen, welche sich durch eine eisenkatalysierte Reaktion zu Karbonylen umformen, die Verbindungen mit primären Aminen eingehen und schließlich polymerisieren. Die als Endprodukte entstehenden Polymere autofluoreszieren. Dieses Modell einer durch Eisen katalysierten und durch Radikale initiierten Reaktionskette wurde benutzt, um die Entstehung der für die CL typischen, autofluoreszierenden Lipopigmente zu erklären (GUTTERIDGE et al., 1983; GUTTERIDGE, 1985). Zwei ältere Veröffentlichungen (CHIO et al., 1969; CHIO u. TAPPEL, 1969) legen eine analoge Entstehung autofluoreszierender Polymere ohne die Beteiligung von Eisen und Kupfer dar.

Der Metallgehalt von Zerebrospinalflüssigkeit, die von NCL-kranken und gesunden Kindern verschiedenen Alters entnommen worden war, wurde nach Zugabe von eisen- und kupferspezifischen Chelatbildnern untersucht. Im Liquor von NCL-Patienten wurden jedoch keine gegenüber Kontrollproben erhöhten Metallmengen von den Komplexbildnern gebunden. Es zeigte sich aber, daß der Metallgehalt im Liquor mit dem Alter der Kinder zunahm (HEISKALA et al., 1988).

Gegenwärtig hat die Peroxidationshypothese wenige Anhänger, und sie ist weder bei der Diagnose Erkrankter noch beim Auffinden heterozygoter Krankheitsträger von klinischer Bedeutung (WOLFE et al., 1983).

2.10.2. MÖGLICHE PATHOGENETISCHE BEDEUTUNG VON STÖRUNGEN IM FETTSÄUREMUSTER FÜR DIE CL

SVENNERHOLM (1976) analysierte Gehirnphospholipide und stellte bei an der infantilen NCL-Form erkrankten Kindern ein von der Norm abweichendes Fettsäuremuster mit **Erhöhung** der Poly-enfettsäure-Fraktion fest. Er vermutete einen Primärdefekt im Stoffwechsel dieser Fettsäuren und nannte die infantile NCL auch "polyunsaturated fatty acid lipidosi".

Andere Wissenschaftler untersuchten ebenfalls das Fettsäuremuster von Gehirnphospholipiden bei an der infantilen Form Leidenden, fanden jedoch eine **Erniedrigung** bestimmter mehrfach ungesättigter Fettsäuren (PULLARKAT, 1987). Das Fettsäuremuster von Gehirngewebe erkrankter Englisch-Setter-Hunde entsprach demjenigen von Kontrolltieren (REDDY et al., 1985). ZEMAN und SIAKOTOS vertraten 1973 die Ansicht, daß das für NCL typische autofluoreszierende Lipopigment das Resultat unspezifischer Peroxidationsreaktionen von mehrfach ungesättigten Fettsäuren sei. Der sich dabei bildende Malondialdehyd könnte mit Proteinen zu einem autofluoreszierenden Komplex Schiffscher Basen reagieren.

Die Malondialdehydverbindung N-acetyl-(2propenal) Lysin kommt im Urin vor. Sie wurde im Urin von Menschen, die normale Kost

erhielten, gemessen, sowie im Urin von NCL-Patienten und im Urin von Ratten, die eine Vitamin-E-Mangeldiät erhielten oder ein mit Fischölen angereichertes Futter. Erhöhte Werte an Malondialdehydverbindungen konnten jedoch nur bei den behandelten Ratten ermittelt werden.

In dem für CL charakteristischen gereinigten Lipopigment konnten keine Malondialdehydverbindungen nachgewiesen werden (WOLFE et al., 1987).

2.10.3. MÖGLICHE BEDEUTUNG VON RETINOIDVERBINDUNGEN UND DOLICHOLEN FÜR DIE CL - PATHOGENESE

Bei der chemischen Analyse von gereinigtem NCL-spezifischem Lipopigment ließ das Ergebnis darauf schließen, daß der für die Autofluoreszenz verantwortliche Bestandteil eine Retinoidverbindung sein könnte (WOLFE et al., 1977).

In Lipopigmentproben von CL-kranken Hunden wurden erhöhte Werte an phosphoryliertem Dolichol gemessen (KELLER et al., 1984).

Weitere Untersuchungen zeigten, daß nach der Saponifikation von Gehirngewebe mehr Dolichol bei von NCL-Patienten stammenden Proben frei wurde als bei den von gleichaltrigen gesunden Individuen stammenden (WOLFE et al., 1987).

Bei der infantilen, der spätinfantilen der juvenilen Form und auch der GM1-Gangliosidose und der Tay-Sachs-Krankheit wurden in Geweben erhöhte Werte an phosphoryliertem Dolichol gemessen, und bei den NCL-Formen wurde außerdem eine Erhöhung bestimmter Oligosaccharide festgestellt (WOLFE et al., 1988). WOLFE et al. (1988) verfaßten daraufhin einen neuen Zusatz zu ihrer 1987 aufgestellten und unter 2.10.4.1. dargelegten Hypothese: Die Speicherung von krankheitsspezifischem Material bei NCL und den Gangliosidosen führe zu einem behinderten Katabolismus von Dolicholphosphaten in den Golgizisternen bzw. primären Lysosomen. Damit deuteten WOLFE et al. (1988) die erhöhten Meßwerte von phosphoryliertem Dolichol und Oligosacchariden bei der CL als durch lysosomale Lipopigmentanreicherung verursachtes Sekundärereignis.

Zahlreiche vor kurzem durchgeführte Messungen erbrachten bei Hirn-, Pankreas-, Muskel- und Nierengewebe von NCL-Patienten erhöhte Werte an phosphoryliertem Dolichol. Zusätzlich dazu konnten erhöhte Werte an freiem Dolichol nur bei Hirn- und Pankreasgewebe von NCL-Patienten festgestellt werden. Die ungewöhnlich hohen Werte an phosphoryliertem Dolichol wurden in frühen Stadien der CL gemessen, während erhöhte Werte an freiem Dolichol in späten Stadien der CL in Gehirn und Pankreas feststellbar waren (HALL u. PATRICK, 1987). Neueste Messungen verschiedener Organproben, die von an spätinfantiler und juveniler NCL leidenden Patienten stammten ergaben sowohl erhöhte Werte an phosphoryliertem Dolichol als auch an verschiedenen Oligosacchariden (HALL u. PATRICK, 1988). HALL und PATRICK führten dies auf eine Stoffwechselstörung zurück, die bei NCL-Patienten die Metabolisierung von an Dolicholpyrophosphat gebundenen Oligosacchariden beeinträchtigt.

Es wurden Dolicholanalysen einer Reihe verschiedener Organgewebe, die von 68-74 Jahre alten gesunden Menschen stammten, durchgeführt. Die höchsten Dolicholwerte mit 7168µg/g Frischgewicht wurden in der Hypophyse gemessen, gefolgt von 1598µg/g Naßgewicht in der Nebenniere. Der niedrigste Wert (82µg/g) wurde im Colon gemessen. Diese Meßergebnisse lassen darauf schließen, daß die Dolicholwerte von der Funktion der Zellen, die die Hauptmasse eines Organs ausmachen, abhängig sind (TOLLBOM u. DALLNER, 1986).

Dolicholwerte steigen außerdem beim Menschen (NG YIN KIN et al., 1983; PULLARKAT, 1987) und bei der Maus (PULLARKAT et al., 1984) mit zunehmendem Alter an.

Auch bei Alzheimer-Patienten wurden im Gehirngewebe höhere Dolicholwerte gemessen als im Gehirn gleichaltriger Gesunder (PULLARKAT, 1987; WOLFE et al., 1987).

Eine deutliche Erhöhung der Dolicholwerte in Hippocampus und Kleinhirn wurde bei Ratten nach Dauerinfusion mit Chloroquin oder mit Leupeptin festgestellt. Letzteres wirkt als Hemmstoff des lysosomalen Enzyms Thiolendoprotease (WOLFE et al., 1987).

Dolichole sind langkettige Polyisoprenoidalkohole. Eine gründlich erforschte Funktion von Dolicholpyrophosphat ist der Oligosaccharidtransfer zu Proteinen, die während ihrer Translation glycosyliert werden (TOLLBOM u. DALLNER, 1986; GOLDBERG D. E., 1987). Die höchste Konzentration intrazellulär vorkommender Dolichole befindet sich in der Fraktion der Lysosomen. Dolichole werden daher auch als lysosomale Marker bezeichnet (KELLER et al., 1982). Die Funktion der Dolichole innerhalb der Lysosomen ist noch nicht erforscht (PALMER, 1988, persönl. Mitteilung).

In der Fraktion des für Ceroidlipofuszinose typischen Lipopigmentes wurden auch "erhöhte" Werte von freiem Dolichol gemessen (PULLARKAT, 1987; WOLFE et al., 1987), d.h. die Lipidfraktion des isolierten Lipopigmentes enthielt bei der infantilen, der spätinfantilen und der juvenilen Form der humanen CL und bei der ovinen CL 1-3% freies Dolichol (NG YIN KIN et al., 1983; PALMER, 1986a). Diese Dolicholwerte sind höher als diejenigen in der mit Zytosomen angereicherten subzellulären Fraktion von Kontrollgruppen, aber niedriger, als man in einer Anreicherung von unveränderten Lysosomen erwarten würde und auch niedriger als in aus menschlichem Hirngewebe isoliertem Alterspigment (PULLARKAT, 1987).

Bei der Interpretation der Messungen von Dolicholwerten sollte daran gedacht werden, daß sowohl mit zunehmendem Alter als auch beim Vorliegen degenerativer Erkrankungen, wie z.B. bei CL und Alzheimerscher Krankheit, das Muster funktioneller Gewebszellen sich im Vergleich zu gesundem Kontrollgewebe verändert. Daher könnten die bei diesen Krankheiten geringfügig erhöhten Dolicholwerte auch auf Veränderungen in der Zellpopulation beruhen.

Die pathogenetische Bedeutung der bei Ceroidlipofuszinose gemessenen Erhöhung der Dolicholwerte ist also immer noch nicht ausreichend geklärt.

2.10.4. CEROIDLIPOFUSZINOSE ALS MÖGLICHE PROTEINOSE

2.10.4.1. LIPOPIGMENTAKKUMULATION, VERURSACHT DURCH DEN DEFECT EINER LYSOSOMALEN PROTEASE

Eine Anreicherung von Dolichol wurde in Lipopigmentmaterial festgestellt, das aus Gehirnen von Ratten stammt, die mit Leupeptin behandelt worden waren. Leupeptin reichert sich intrazellulär in Lysosomen an, wo es das Enzym Zysteinproteinasen, auch Thiolendoprotease genannt, hemmt. Als Folge davon entstehen lysosomale Lipopigmentformationen (IVY, 1984a,b), deren Ultrastruktur den bei der CL vorkommenden "fingerprint bodies" sehr ähnlich sieht.

WOLFE et al. stellten 1987 eine neue Hypothese zur Pathogenese der Ceroidlipofuszinose auf. Sie stützten sich dabei auf das oben beschriebene Experiment von IVY (1984a,b) und auf die von PALMER (1986b) veröffentlichten Experimente, die zeigen, daß das bei der ovinen Ceroidlipofuszinose angereicherte Lipopigment zu etwa zwei Dritteln aus Protein besteht. Weiterhin benutzen WOLFE et al. zur Aufstellung ihrer Hypothese die gegenwärtige Vorstellung der Pathogenese des Chediak-Higashi-Syndroms: Bei erkrankten Beige-J-Mäusen, die bei der Erforschung des humanen Chediak-Higashi-Syndroms als Modelltiere Verwendung finden, wurden erhöhte Dolicholwerte gemessen.

Nach MAC CLUER (WOLFE et al., 1987) sind die bei diesem Syndrom charakteristische Bildung von Riesenlysosomen und die Anreicherung von Lipopigmenten auf einen Enzymdefekt zurückzuführen, der die zellulären Exozytosemechanismen beeinträchtigt.

Der gegenwärtigen Hypothese von Wolfe et al. zur Erklärung der Pathogenese der CL liegt die Auffassung zugrunde, daß Thiolendoproteasen den Katabolismus, das Recycling und auch die Ausschleusung lysosomaler Membranen durch Exozytose kontrollieren. Ein Defekt in der Regulation oder der Synthese der Thiolendoproteasen könnte eine pathologische Akkumulation und anschließende Kondensation sowie unspezifische Peroxi-

dation von Material verursachen, das von lysosomalen Membranen stammt und das in akkumuliertem Zustand die Ultrastruktur der für CL typischen "lipopigment bodies" annimmt (WOLFE et al., 1987).

Klinische und pathologische Symptome des Chediak-Higashi-Syndroms sind sehr verschieden von denjenigen der NCL (RODER, 1982). Es ist nicht geklärt, ob das sich bei der Chediak-Higashi-Krankheit anreichernde Lipopigment genauso zusammengesetzt ist wie das bei der CL akkumulierende. Weiterhin liegen bisher keine Beweise dafür vor, daß diese Lipopigmente aus peroxidiertem Material entstehen.

Lysosomale Membranen sind aus vielen Molekülen zusammengesetzt, die alle verschiedene Halbwertszeiten und damit auch Austauschwerte haben (PETELL u. DOYLE, 1987). Daher ist es ziemlich unwahrscheinlich, daß ein einziges Enzym, wie z.B. die Thiolendoprotease, sowohl das Recycling als auch die Exozytose kompletter Abschnitte lysosomaler Membranen reguliert.

2.10.4.2. MÖGLICHE BEDEUTUNG EINER STÖRUNG IM GLYKOPROTEIN-STOFFWECHSEL FÜR DIE PATHOGENESE DER JUVENILEN NCL

Von drei an juveniler NCL leidenden Patienten wurden Hautfibroblasten kultiviert. Biochemische Untersuchungen an diesen Zellen zeigten einen gegenüber Kontrollgruppen erhöhten Gehalt sowohl an stickstoffgebundenen Oligosacchariden als auch an mannosehaltigen Glykoproteinen (WISNIEWSKI et al., 1988). Vorausgehende Versuche hatten gezeigt, daß Glykoproteine bei juveniler NCL erhöhte Gehalte an sauerstoffgebundenen (DAWSON, 1982) und stickstoffgebundenen (WISNIEWSKI u. SZUMANSKA, 1986) Oligosacchariden enthielten. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, daß bei juveniler NCL Defekte beim Einbau von sauerstoff- und stickstoffgebundenen Oligosacchariden in Glykoproteine vorliegen könnten (WISNIEWSKI et al., 1988).

2.10.4.3. OVINE CEROIDLIPOFUSZINOSE ALS "PROTEOLIPID-PROTEINOSE"

Bei der OCL besteht das aus Organgewebe von ein bis zwei Jahre alten Schafen isolierte Lipopigment zu 65-75% aus Protein, zu 16-27% aus Lipid, zu 1-2% aus Metallen und zu einem geringen Restanteil aus Kohlenhydraten. Die gelelektrophoretische Proteinanalyse von Gewebehomogenaten zeigte eine auffällige Bande bei dem Molekulargewicht 3 500, die sich nur bei dem von kranken Tieren stammendem Homogenat, nicht aber bei dem von Kontrolltieren stammenden Homogenat abzeichnete. Bisher wurden 40 Aminosäuren dieses sich bei 3 500 auf dem Gel ablagernden Proteins sequenziert, und es wurde als N-terminales Fragment der lipidbindenden Untereinheit der protonenübertragenden mitochondrialen ATP-Synthase identifiziert, die in der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert ist (PALMER et al., 1986a,b; PALMER et al., 1988a,b).

Somit scheint die OCL zu einer neuen Gruppe lysosomaler Speicherkrankheiten, den "Proteolipid-Proteinosen", zu gehören.

Verschiedene Interpretationsmöglichkeiten dieser Forschungsergebnisse hinsichtlich ihrer pathogenetischen Bedeutung werden unter 4.5. diskutiert.

2.10.5. MÖGLICHE PATHOGENETISCHE BEDEUTUNG DER ERYTHROPHAGOZYOSE FÜR DIE CL - EINE AUF MORPHOLOGISCHEN BEOBSACHTUNGEN BERUHENDE HYPOTHESE

ELLEDER (1987) stellte bei der spätinfantilen CL des Menschen eine neue Hypothese für die Entstehung des krankheitsspezifischen Lipopigmentes auf. Er untersuchte Blinddarmgewebe bei elf an der spätinfantilen Form Erkrankten und dokumentierte die Biogenese der Lipopigmente mit kurvilineareren Feinstruktur. Er ist der Ansicht, diese Lipopigmente entstünden bei der Heterophagozytose von Erythrozyten.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. MATERIAL UND METHODEN

3.1.1. AUSWAHL DER TRÄCHTIGEN OCL-POSITIVEN UND KONTROLL- MUTTERSCHAFE FÜR DIE PROBENENTNAHME

Die bei der Auswahl der OCL-Muttertiere verfügbaren acht OCL-positiven weiblichen Schafe entstammten einer Versuchsherde ingezüchteter heterozygoter Southhampshire-Schafe, die regelmäßig einmal pro Jahr von einem acht bis neun Monate alten OCL-positiven Bock gedeckt werden. Als zwei bis drei Monate alte Lämmer waren diese acht weiblichen Schafe an Hand von Gehirnbioptaten als OCL-positiv diagnostiziert und von da an abgesondert in einer Koppel unter Beobachtung gehalten worden. Alle acht OCL-positiven Schafe wurden im Alter von elf bis 13 Monaten, nachdem sie die für das späte Stadium der OCL typische Symptomatik entwickelt hatten (siehe 2.8.1.), von einem ebenfalls OCL-positiven Bock unter Farbmarkierung gedeckt, so daß das genaue Deckdatum festgehalten werden konnte.

Für die Untersuchungen war es unerlässlich, OCL-positive Schafe von einem OCL-positiven Bock decken zu lassen, denn die Früchte sind nur dann mit Sicherheit OCL-positiv, wenn beide Elterntiere homozygot behaftet sind. Bei der Trächtigkeitsuntersuchung mit einem Ultraschallgerät 60 Tage nach dem Decken erwiesen sich fünf Tiere als trächtig. Sie wurden für die Probenentnahme herangezogen. Drei Tiere hatten nicht aufgenommen. Dies wurde auf eine möglicherweise krankheitsbedingte, durch Visusverlust, paroxysmale Tremoranfälle und verzögerte Reflexe verursachte Beeinträchtigung des Paarungsverhaltens zurückgeführt. Die fünf trächtigen Tiere wurden von der Koppel genommen und unter Beobachtung im Stall gehalten.

Es erfolgte eine Abstimmung der Termine für die Entnahme der Gewebeproben von Feten und Plazenten mit dem Plan des Kaiserschnittkurses für Tiermedizinstudenten der Massey University.

Zu diesen Terminen standen jeweils auch trächtige zwei- bis zweieinhalbjährige Erstlings-Kontrollschafe der Perendale- und der Suffolk-Rasse zur Verfügung, die wegen erheblicher Lahmheit aus der von der Massey University auf kommerzieller Basis gehaltenen Herde ausgesondert worden waren. So ergaben sich Unterschiede im Trächtigkeitsstatus zwischen den in die eigene Untersuchung integrierten fünf OCL-positiven Tieren und den fünf Kontrolltieren.

Tabelle V :

Trächtigkeitsstatus der für die Probenentnahme ausgewählten OCL-positiven und der Kontroll-Schafe sowie Scheitelsteißlängen (=SSL) der zugehörigen Feten.

Mutterschafe	Rasse	Trächtigkeitsstatus	SSL in cm	Geschlecht der Feten
OCL-positiv	Southhampshire	62 Tage	12	männl.
OCL-positiv	"	71 Tage	16	männl.
OCL-positiv	"	78 Tage	16	weibl.
OCL-positiv	"	93 Tage	26	weibl.
OCL-positiv	"	100 Tage	29	männl.
Kontrolltier	Suffolk	61 Tage	12	weibl.
"	Perendale	93 Tage	27	männl.
"	Perendale	93 Tage	27	männl.
"	Perendale	119 Tage	36,5	männl.
"	Suffolk	120 Tage	37,5	weibl.

3.1.2. VORBEREITUNG ZUR SECTIO CAESAREA

Die Halothan-Lachgas-Narkose für die Sectio caesarea der OCL-positiven Schafe und der Kontrollschafe mit nicht therapierbarer Lahmheit wurde mit Barbituraten intravenös eingeleitet, worauf die Intubation erfolgte. Nach vollendeter

Sectio wurden diese Tiere euthanasiert. Kontrollschafe, deren Lahmheit als therapierbar eingestuft worden war, wurden unter Lokalanästhesie (durch Setzen eines umgekehrten "L"-Blockes in der Flanke) operiert und post operationem antibiotisch versorgt.

3.1.3. GEWINNUNG FETALER ORGANPROBEN

Während der Sectio wurden die Mutterschafe in Seitenlage fixiert. Nach Eröffnung der Bauchwand in der Flanke wurde das die Fruchtblase enthaltende Gebärmutterhorn vorverlagert und mit einem ca. 12 cm langen Schnitt eröffnet. Eine Ligatur wurde um den abgeklemmten Nabelstrang gesetzt, und dieser wurde durchtrennt. Bei der Entnahme wurde der Fetus aus den Fruchthüllen gestreift. Proben von fetalem Groß- und Kleinhirn, von Pankreas, Leber, Niere und Nebenniere wurden sowohl in Formalin fixiert als auch in zweiprozentigem Glutaraldehyd mit dem Skalpell in kleine Würfel von 1 mm Kantenlänge geschnitten und über Nacht fixiert.

3.1.4. GEWINNUNG DER PLAZENTAPROBEN

Nach der Entnahme der Frucht wurde entlang der Linie des Schnittes, mit dem die Gebärmutter eröffnet worden war, ein ca. 1 cm breites, 4 cm langes Gewebestück mit dem Skalpell abgetrennt. Dieses stellte einen Vertikalschnitt durch zwischen den Plazentomen gelegenes Gewebe dar, welcher sowohl fetales als auch mit der Uteruswand verbundenes maternales Plazentagewebe enthielt. Ein ca. 1 cm langes Stück dieses Vertikalschnittes wurde abgetrennt, nach Entfernung des äußeren Uteruswandanteiles in zweiprozentigem Glutaraldehyd mit einem Skalpell in Würfel von 1 mm Kantenlänge geschnitten und über Nacht fixiert. Der übrige Teil des Vertikalschnittes durch Plazenta und Uteruswand wurde in Formalin fixiert. Weiterhin wurde ein Plazentom abgebunden und entnommen. Die eine Hälfte davon wurde in Formalin fixiert. Von der anderen Hälfte wurden in zweiprozentigem Glutaraldehyd Würfel mit ca.

1 mm Kantenlänge von Teilstücken der Hiluszone des Plazentoms geschnitten und über Nacht fixiert.

3.1.5. HISTOLOGIE

Formalinfixierte Gewebe, d.h. jeweils ein Querschnitt durch Groß- und Kleinhirn, zwei Leberlappen, das Pankreas sowie eine Scheibe einer halbierten Niere, eine ganz belassene Nebenniere, ein Vertikalschnitt durch Plazentagewebe und eine Scheibe eines halbierten Plazentoms wurden in Paraffin eingebettet. Vier bis fünf Mikrometer dicke Schnitte wurden nach den üblichen Verfahren mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Diese Schnitte dienten vorwiegend zur Orientierung im Gewebe, denn selbst bei erwachsenen OCL-kranken Schafen läßt sich das in den Zellen angereicherte Material nicht zuverlässig in der HE-Färbung darstellen. Deshalb wurden Schnitte von allen Geweben mit Sudan Schwarz B, PAS und Luxol Fast Blue gefärbt, da sich das OCL-spezifische Lipopigment bereits bei zwei Monate alten Lämmern mit diesen Methoden deutlich markieren ließ (SHIMADA, 1987).

Wenn sich bei der lichtmikroskopischen Auswertung von Schnitten eines Organs unterschiedliche Ergebnisse zwischen OCL-positivem und Kontroll-Gewebe ergaben, wurden zusätzlich ungefärbte Paraffinschnitte fluoreszenzmikroskopisch mit einem Olympus-BHS-Mikroskop, an das eine BH2-R-Einrichtung angeschlossen war, bei Exzitationsmaxima von 350 und 490nm untersucht.

In Hämatoxylin-Eosin-gefärbten Paraffinschnitten erscheinen Kerne blau, Zytoplasma rosa und Kollagenfasern rot. Ceroid-Lipofuszin erscheint bei humaner NCL gewöhnlich gelblich, bei OCL meist farblos bis schwach eosinophil.

Bei der Färbung mit Sudan Schwarz B werden im Paraffinschnitt jene Lipide, die durch die Vorbehandlung mit organischen Lösungsmitteln bei der Fixierung und Einbettung nicht

herausgelöst wurden, schwarz dargestellt, da der Farbstoff eine größere Affinität zu Lipiden als zum alkoholischen Solvens hat.

Die Perjodsäure des PAS-Reagens spaltet Moleküle, die benachbarte Glykolgruppen (oder eine einer Glykolgruppe benachbarte Aminohydroxylgruppe) enthalten, oxidativ. Die entstandenen Aldehydgruppen ergeben mit dem Schiffschen Reagens eine purpurrote Farbe. Durch Vorbehandlung mit Diastase werden Kohlenhydrate mit alpha-1,4-glykosidischer Bindung wie z.B. Glykogen hydrolytisch gespalten, so daß das PAS-Reagens keinen Angriffspunkt mehr findet.

Luxol Fast Blue färbt Phospholipide, speziell solche in Myelin, tiefblau. Durch Gegenfärbung mit Hämatoxylin erscheinen die Kerne blauviolett.

3.1.6. ELEKTRONENMIKROSKOPIE

Jeweils acht ca. einen Kubikmillimeter große Gewebeproben wurden nach der Fixierung in zweiprozentigem Glutaraldehyd in Phosphatpufferlösung gewaschen, in einprozentigem Osmiumtetroxid nachfixiert, dehydriert und in Epoxykunstharz (Durcupan-ACM, Fluka) eingebettet.

An Hand der Toluidinblau-gefärbten Semidünnschnitte wurden die für die Dünnschnitte in Frage kommenden Bereiche der Gewebeproben ausgewählt: Bei Groß- und Kleinhirnproben wurden jeweils Grenzbereiche zwischen Mark und je nach Alter des Fetus unterschiedlich differenzierter Rinde dünn geschnitten, bei Nieren- und der Nebennierenproben sowohl je ein Mark- als auch ein Rindenbereich, bei Proben des zwischen den Plazentomen gelegenen und des Plazentom-Gewebes wurden Bezirke im Dünnschnitt untersucht, die sowohl fetales als auch maternales Epithel zeigten. Bei fetalen Pankreas- und Leberproben wurden jeweils für das Organ typische Parenchymzonen dünn geschnitten.

Die mit Uranylazetat und Bleizitrat kontrastierten Dünnschnitte wurden zum Teil mit einem Philips EM 201 C, jedoch größtenteils mit einem Zeiss EM 10 ausgewertet.

3.1.7. GEWINNUNG DER BLUTPROBEN UND AUFBEREITUNG DER WEIßEN BLUTZELLEN FÜR DAS ELEKTRONENMIKROSKOPIEREN

Von den fünf trächtigen OCL-positiven Mutterschafen wurden mit Zehn-Milliliter-Vakuum-Na-EDTA-Röhrchen, auf die Kanülen aufgesetzt wurden, aus der Vena jugularis jeweils 30 ml Blut entnommen.

3.1.7.1. AUFBEREITUNG DES "BUFFY COAT"

Ein blutgefülltes Zehn-Milliliter-Röhrchen von jedem Schaf wurde zehn Minuten bei 850 xg zentrifugiert, bis sich der "buffy coat" deutlich abzeichnete. Dieser wurde mit einer Pasteurpipette in ein Mikrozentrifugenröhrchen übertragen und fünf Minuten zentrifugiert, bis sich ein Zellpellet gebildet hatte, das in zweiprozentigem Glutaraldehyd fixiert und für das Elektronenmikroskopieren aufbereitet wurde.

3.1.7.2. AUFBEREITUNG EINER LYMPHOZYTENANREICHERUNG

Je zwei mit dem Blut eines Schafes gefüllte Zehn-Milliliter-Röhrchen wurden 15 Minuten bei 850 xg zentrifugiert. Mit einer Pasteurpipette wurde der "buffy coat" aus den zwei Röhrchen in ein leeres Zehn-Milliliter-Röhrchen übertragen, mit drei Millilitern phosphatgepufferter Kochsalzlösung überschichtet und mit der Pipette gemischt. Diese Mischung wurde in ein Reagenzglas übertragen, in das drei Milliliter "Lymphoprep" gefüllt worden waren, und anschließend bei 850 xg 45 Minuten zentrifugiert. Der entstandene helle Zellsaum wurde in ein leeres Reagenzglas übertragen, mit drei Millilitern phosphatgepufferter physiologischer Kochsalzlösung überschichtet und fünf Minuten bei 850 xg zentrifugiert. Dieser Waschvorgang wurde dreimal wiederholt.

Nach dreimaligem Zentrifugieren wurde der Flüssigkeitsüberstand abgesaugt, das Zellpellet in zweiprozentigem Glutaraldehyd fixiert und für das Elektronenmikroskopieren aufbereitet.

3.1.8. ISOLATION UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFBEREITUNG VON AUS OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-GEWEBEPROBEN ISOLIERTEN SUBZELLULÄREN STRUKTUREN

Isolation und biochemische Untersuchung der OCL-spezifischen Zytosomen hatten ergeben, daß das vorherrschend gespeicherte Molekül ein Oligopeptid vom Molekulargewicht 3 500 ist. Die Sequenz dieses Moleküls ist identisch mit dem N-terminalen Abschnitt einer in der mitochondrialen Innenmembran verankerten Untereinheit der protonenübertragenden ATP-Synthase (siehe 2.10.4.3.).

Um abzuklären, ob elektronenmikroskopisch Strukturveränderungen an den von OCL-Tieren stammenden Mitochondrien bzw. submitochondrialen Partikeln festzustellen sind, wurden aus Autopsiematerial von jeweils zwei zweijährigen OCL- und Kontroll-Tieren Proben von grauer Hirnsubstanz, Nierenrinde, Leber- und Pankreasparenchym entnommen. Aus diesen Geweben wurden Mitochondrien und submitochondriale Partikel isoliert und elektronenmikroskopisch untersucht. Zusätzlich wurden aus den von OCL-Tieren gewonnenen Proben OCL-spezifische Zytosomen isoliert und ebenfalls zum Vergleich mit isolierten Mitochondrien und submitochondrialen Partikeln für das Elektronenmikroskopieren aufbereitet.

3.1.8.1. ISOLATION VON MITOCHONDRIEN UND SUBMITOCHONDRIALEN PARTIKELN

Aus den oben genannten frischen ovinen Organgeweben wurden nach der Methode von Nedergard und Cannon (1979) die Mitochondrien durch Homogenisieren in gepufferter Sucroslösung und fraktioniertes Zentrifugieren isoliert. Das resultierende Pellet

wurde in gepufferter Sucroslösung (0,28 M Sucrose, 0,01 M Tris-HCl, pH 7,4) resuspendiert. Die submitochondrialen Partikel entstanden durch zweiminütiges Sonikieren der Mitochondrien-Suspension bei 30 Mikron in einem Soniprep 150 Sonikator und anschließendes zehnminütiges Zentrifugieren bei 7 500 xg .

Aliquots des resultierenden Pellets wurden sowohl in zweiprozentigem Glutaraldehyd fixiert und für das Elektronenmikroskop aufbereitet als auch nach im folgenden beschriebener Methode negativ kontrastiert und anschließend elektronenmikroskopiert (siehe 3.1.8.3.).

3.1.8.2. ISOLATION VON OCL-SPEZIFISCHEN ZYTOSOMEN

OCL-spezifische Zytosomen wurden aus oben genannten OCL-Organproben nach der Methode von PALMER et al. (1988a) durch Homogenisieren, Filtrieren, Sonikieren und fraktioniertes Zentrifugieren isoliert, so daß jeweils zwei Pellets aus einer Organprobe resultierten.

3.1.8.3. AUFBEREITUNG DER ISOLATE FÜR DAS ELEKTRONENMIKROSKOP

Aliquots der bei den jeweiligen Isolierungsprozessen gewonnenen Pellets wurden in zweiprozentigem Glutaraldehyd fixiert, nach dem Waschen in 0,1M Phosphatpufferlösung in Osmiumtetroxid nachfixiert, dehydriert und in Epoxy-Kunstharz (Durcupan-ACM, Fluka) eingebettet.

Außerdem wurden Aliquots sowohl der Pellets aus submitochondrialen Partikeln als auch der Pellets aus OCL-Zytosomen in deionisiertem Wasser resuspendiert, bis eine annähernd klare Flüssigkeit mit gerade noch erkennbaren feinen Flocken entstand. Einseitig mit Kunststoff beschichtete 300-Maschen-Kupfernnetzchen wurden zehn Sekunden in 0,5-prozentiges bovines Serumalbumin getaucht, getrocknet, eine Minute in einen Tropfen der jeweiligen Probensuspension ge-

taucht, getrocknet, mit destilliertem Wasser abgespült und 30 Sekunden in zweiprozentigem Kalium-Phosphorwolframat (pH7,2) kontrastiert. Am selben Tag wurden die so aufbereiteten Proben elektronenmikroskopisch untersucht und fotografiert.

3.2. ERGEBNISSE

3.2.1. LICHT- UND FLUORESCENZMIKROSKOPISCHE BEFUNDE

3.2.1.1. HIRNGEWEBE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN

Bei dem 62 Tage alten OCL-positiven Fetus lassen sich mit den gewählten Methoden keine Zelleinschlüsse im Hirngewebe feststellen. Einige wenige kortikale Neuronen von Cerebrum und Cerebellum des 71 Tage alten OCL-Fetus enthalten einzelne winzige Sudan-Schwarz-B-positive autofluoreszierende Granula, die aber nicht PAS- oder Luxol-Fast-Blue-positiv reagieren. Bei den 78, 93 und 100 Tage alten OCL-positiven Feten erscheinen winzige Sudan-Schwarz-B- und PAS-positive autofluoreszierende Granula in einer größeren Anzahl kortikaler Neuronen, jedoch nur im Hirngewebe des 100 Tage alten Fetus sind Luxol-Fast-Blue-positive intraneuronale Granula zu sehen.

In den Hirnschnitten von Kontroll-Feten lassen sich weder licht- noch fluoreszenzmikroskopisch intrazelluläre Einschlüsse nachweisen.

3.2.1.2. LEBERGEWEBE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN

In mehreren Zellen der Leberschnitte aller untersuchten Feten sind größere und kleinere Sudan-Schwarz-B- und PAS-positive Granula zu erkennen. Durch kombinierte PAS-Diastase-Färbung wird die Anzahl der PAS-positiven Granula leicht reduziert.

Im Lebergewebe der 93 und 100 Tage alten OCL-Feten kommen autofluoreszierende Zelleinschlüsse nur vereinzelt vor.

3.2.1.3. NIERE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN

Im Nierengewebe, besonders im Epithel der Sammelröhrchen des Nierenmarkes sowohl von OCL-positiven als auch von Kontroll-Feten, lassen sich zahlreiche Sudan-Schwarz-B- und PAS-positive granuläre Zelleinschlüsse erkennen. Letztere verschwinden nach kombinierter PAS-Diastase-Färbung.

3.2.1.4. NEBENNIERE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN

Sämtliche untersuchten Nebennierengewebsproben von OCL-positiven und Kontroll-Feten zeigen in einigen Zellen des Mark- und Rindenbereiches feine Sudan-Schwarz-B-positive Granula.

Nur in vereinzelten Mark- und Rindenzellen des 100 Tage alten OCL-positiven Fetus befinden sich zusätzlich winzige auto-fluoreszierende Einschlüsse.

3.2.1.5. PANKREAS VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN

Sowohl bei OCL-positiven als auch bei Kontroll-Feten aller untersuchten Altersstufen lassen sich in sekretorisch aktiven Pankreaszellen PAS-positive Granula darstellen, die auch die kombinierte PAS-Diastase-Färbung überstehen.

3.2.1.6. PLAZENTAGEWEBE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-SCHAFEN

Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung ist zwischen dem von OCL-positiven und dem von Kontroll-Tieren stammenden Plazentagewebe kein Unterschied festzustellen: Das maternale und in geringerem Grade auch das fetale plazentäre Epithel weisen größere und kleinere PAS-positive Einschlüsse auf, besonders gehäuft im Trophoblastenepithel der Chorionzotten. Die in allen untersuchten Regionen der Plazenta auftretenden "Bonnetschen Stäbchen" des fetalen Epithels reagieren Sudan-Schwarz-B-positiv.

3.2.1.7. TABELLE VI

3.2.1.7. TABELLE VI:

ZUSAMMENFASSUNG DER LICHT- UND FLUORESZENZMIKROSKOPISCHEN UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE VON OCL.-POSITIVEN UND KONTROLL GEWEBEN

n.d. = nicht positiv, OCL-neg. = OCL-negativ, SS8 = Sudan-Schwarz-B, PAS = Perjodsäure-Schiff-Reaktion, PAS-Perjodsäure-Schiff-Diastase Reaktion, LFB = Luxol-Fast-blue-Färbung, F = Autofluoreszenz, n.d. = nicht durchgeführt, + = positiv, - = negativ

Organ / Gewebe	OCL- pos. / neg.	Fetales Alter in Tagen	Reaktion der Zeileinschlüsse			
			SSB	PAS	PAS-D. LFB	F
Hirn	pos.	62	-	-	n.d.	-
	pos.	71	+	-	n.d.	+
	pos.	78	+	+	n.d.	+
	pos.	93	+	+	n.d.	+
	pos.	100	+	+	n.d.	+
Leber		5xneg.	-	-	n.d.	-
	pos.	62	+	+	+	-
	pos.	71	+	+	+	-
	pos.	78	+	+	+	-
	pos.	93	+	+	+	+
	pos.	100	+	+	+	+
		5xneg.	+	+	+	-

Niere	5xpos.	62, 71, 78, 93, 100	+	+	-	-	n. d.
	5xneg.	61, 93, 93, 119, 120	+	+	-	-	n. d.
Nebenniere	pos.	62	+	+	-	n. d.	-
	pos.	71	+	+	-	n. d.	-
	pos.	78	+	+	-	n. d.	-
	pos.	93	+	+	-	n. d.	-
	pos.	100	+	+	-	n. d.	+
	5xneg.	61, 93, 93, 119, 120	+	+	-	n. d.	-
Pankreas	5xpos.	62, 71, 78, 93, 100	-	+	-	+	n. d.
	5xneg.	61, 93, 93, 119, 120	-	+	-	+	n. d.
Plazenta	5xpos. und 5xneg.	alle Proben	-	+	-	+	-
mat. Ep.	5xpos. und 5xneg.	alle Proben	+	+	-	+	-
fet. Ep.							

3.2.2. ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE BEFUNDE

3.2.2.1. HIRNGEWEBE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN

In allen untersuchten Groß- und Kleinhirnpräparaten OCL-positiver Feten kommen elektronendichte Zelleinschlüsse vor, die bei starker Vergrößerung Varianten der OCL-spezifischen Feinstruktur zeigen (siehe 2.8.3.).

Im untersuchten Hirngewebe der Kontroll-Feten dagegen treten keine elektronendichten Zelleinschlüsse auf.

Bei den 62 und 71 Tage alten OCL-positiven Feten sind in einigen an der Grenze zwischen primitiver Hirnrinde und Mark lokalisierten Kapillarendothelzellen elektronendichte Zelleinschlüsse zu sehen (Abb. 1a). Stets befinden sich mehrere in einer Zelle, meist sind sie von einer Doppelmembran umgeben. Parallel oder konzentrisch angeordnete Lamellenkonfigurationen bilden ihre innere Struktur. Bei dem 71 Tage alten Fetus zeigen auch einige wenige Neuronen, die sich stets in unmittelbarer Nachbarschaft von Kapillaren befinden, jeweils ein oder zwei elektronendichte, bis etwa ein Viertel der Zellkerngröße einnehmende Zytosomen mit grobgranulär-lamellär gemischtem oder kurvilinearem Profil.

Bei dem 78 Tage alten OCL-positiven Fetus lassen sich in jeder Kapillarendothelzelle der ausgewerteten kortikalen Großhirn- und Kleinhirndünnschnitte zahlreiche meist runde, mitochondriengroße, lamellär strukturierte Zytosomen erkennen. Mehrere Neuronen enthalten ein bis drei unterschiedlich große Zytosomen, die maximal etwa ein Viertel der Zellkerngröße einnehmen und kurvilineare oder fingerabdruckartige Feinstruktur aufweisen.

Bei den 93 und 100 Tage alten OCL-positiven Feten treten zusätzlich zu den lamellär oder fingerabdruckartig strukturierten Einschlüssen in Kapillarendothelzellen (Abb. 1b) in einigen größeren Neuronen des Mark-Rinden-Grenzbereiches von Klein- und Großhirn mehrere mitochondriengroße (Abb. 2a, 2b, 2c) und auch einzelne etwa acht- bis zehnmal so große Zelleinschlüsse auf (Abb. 2d, Z5). Die Struktur der kleinen Zytosomen variiert: Einige von einer Doppelmembran umgebene zeigen eine grobgranulierte Matrix, in die einzelne konzentrisch oder parallel angeordnete Lamellenbündel eingelagert sind (Abb. 2a, Z1, Z2); andere weisen ein kristalloides Profil auf, welches sich aus einander kreuzenden Lamellenbündeln zusammensetzt, in die einzelne runde elektronendichte Areale integriert sind (Abb. 2b, 2c, 2d, Z3). Die großen Zelleinschlüsse weisen kurvilinear, rektilinear und kristalloid strukturierte Profile auf (Abb. 2d, Z5).

Neben den elektronendichten "lamellar" und "fingerprint bodies" sind in Kapillarendothelzellen auch häufig teilweise (Abb. 1b, AM) oder ganz von autophagosomalen Membranen umschlossene Mitochondrien zu sehen, welche in Kapillarendothelzellen des Gehirns von Kontroll-Feten nicht zu finden sind.

Abb. 1 : Kortikale Kapillarendothelzellen im Gehirn OCL-positiver Schaf-Feten

IZ = OCL-spezifischer elektronendichter Zelleinschluß mit Lamellenstruktur

L = Lumen der Kapillare

K = Kern der Kapillarendothelzelle

M = Mitochondrion

AM = Autophagosomale elektronendichte Membranen umgeben einen Teil des Mitochondrions

1a: Cerebrum, 62 Tage alter Schaf-Fetus
Vergrößerung 28 290 x

1b: Cerebellum, 100 Tage alter Schaf-Fetus
Vergrößerung 28 290 x

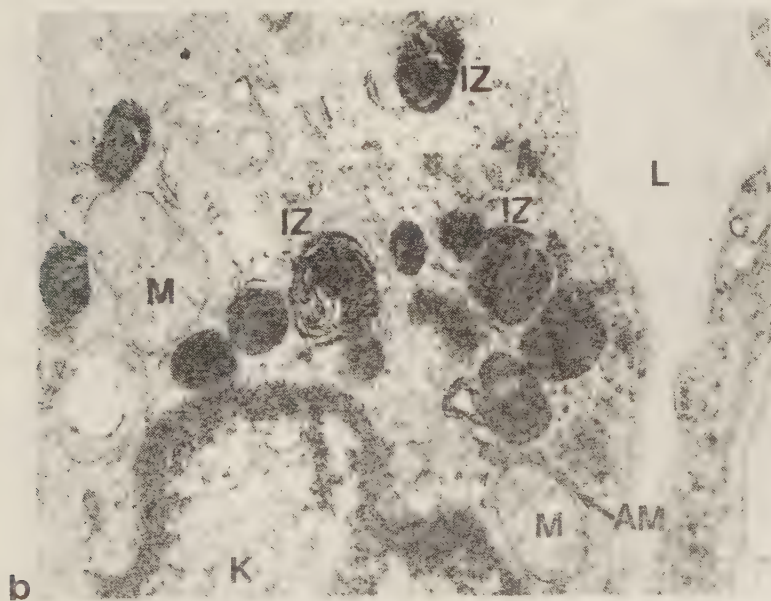
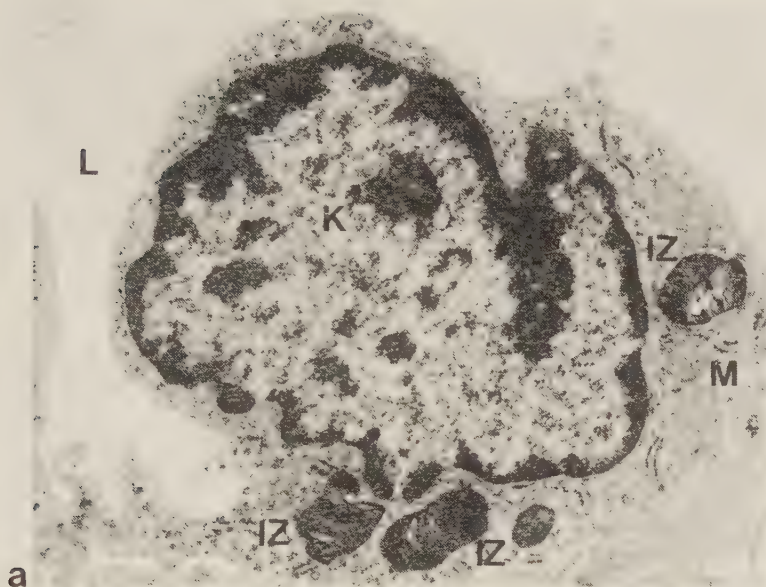


Abb. 2 : Ausschnitte aus einem kortikalen zerebellaren Neuron eines 100 Tage alten OCL-positiven Schaf-Feten

2a : Vergrößerung 57 040 x

2b : Vergrößerung 45 540 x

2c : Vergrößerung 35 650 x

2d : Vergrößerung 35 650 x

Z1-4 = ca. mitochondriengroße elektronendichte Zelleinschlüsse

Z1 = membrangebundener Zelleinschluß mit grobgranulärer Matrix, in welche konzentrisch angeordnete Lamellenbündel eingelagert sind

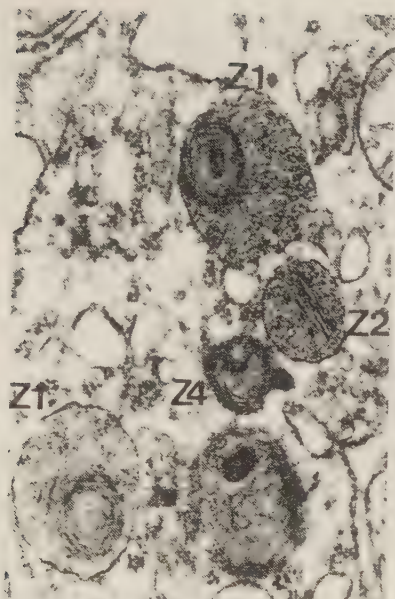
Z2 = membrangebundener Zelleinschluß mit grobgranulärer Matrix, in welche parallele Lamellenstrukturen eingelagert sind

Z3 = Zelleinschlüsse mit kristalloidem Profil, das sich aus einander kreuzenden Lamellen bzw. Tubuli zusammensetzt

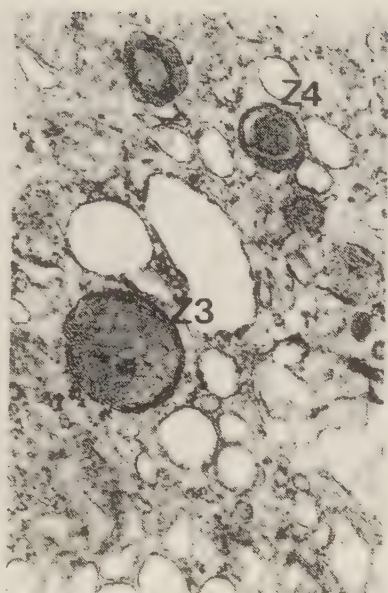
Z4 = Zelleinschluß mit autophagosomaler Struktur

Z5 = etwa acht- bis zehnmal so großer Zelleinschluß wie **Z1 - Z4** mit aus kurvilinearen, rektilinearen und kristalloiden Profilen zusammengesetzter Struktur.

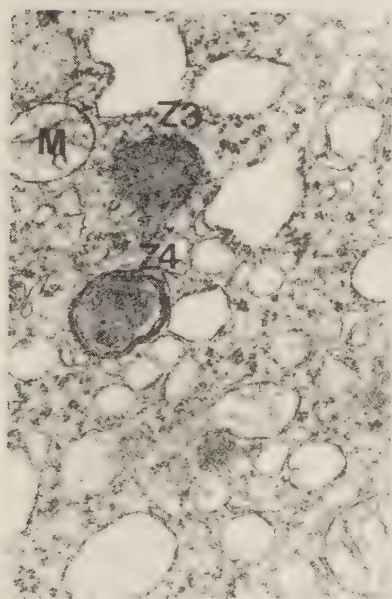
M = Mitochondrion



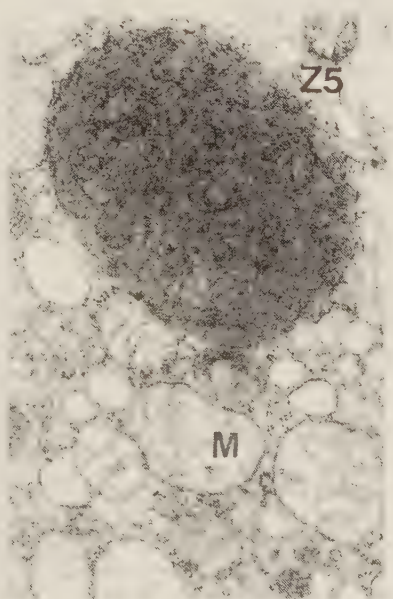
a



b



c



d

Abb. 3 : Ausschnitte aus Kupfferzellen fetaler Schafleber

3a : Lebergewebe eines 100 Tage alten OCL-Fetus
Vergrößerung 14 260 x
(Planfilm 6 x 9 cm)

3b-d: Ausschnitte aus Kupfferzellen der Leber eines
93 Tage alten Kontroll-Feten
(Kleinbildaufnahmen)

3b : Vergrößerung 12 276 x

3c : Vergrößerung 19 000 x

3d : Vergrößerung 15 444 x

kZ = CL-spezifische kurvilineare Zellein-
schlüsse, die auch rektilineare Profile
zeigen

Ly = Lysosomen, die bereits fortgeschrittene
Stadien des Blutzellabbaus repräsentie-
ren

K = Kern der Kupfferzelle

D = Disséscher Raum

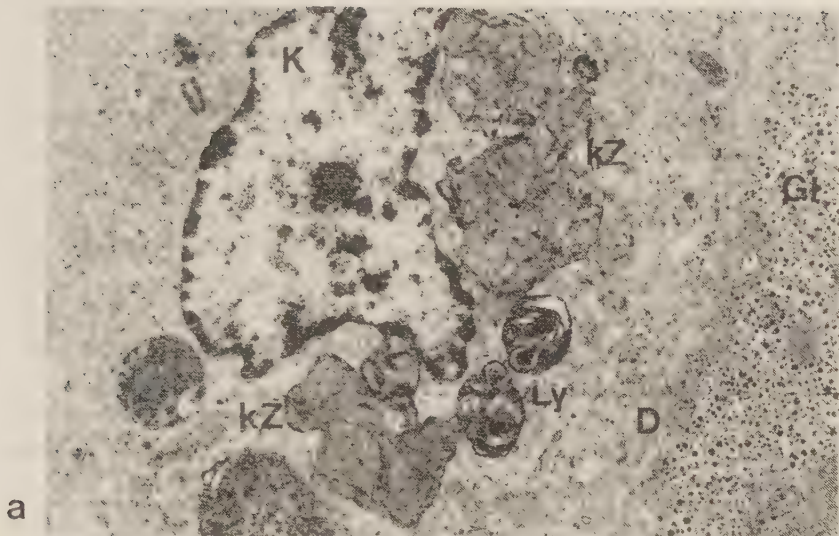
Gl = Glykogengranula eines angrenzenden
Hepatozyten

PI = Phagolysosom, das einen Erythrozyten im
Stadium der Sequestrierung enthält

 = lysosomale Vesikel vereinigen sich mit
Phagolysosom

S = Siderosom

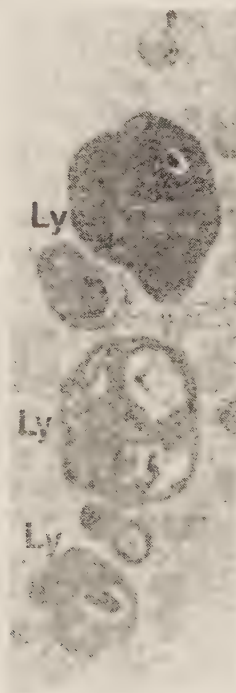
T = lipidhaltiges osmiophiles Telolysosom



a



b



c



d

3.2.2.2. LEBER VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN

Im embryonalen Leberparenchym gesunder und OCL-positiver Feten aller untersuchten Altersstufen fallen - den Glykogengranula (Abb. 3a, G1) und vesikulär gebundene Lipide enthaltenden Hepatozyten benachbart - zahlreiche "Nester" roter und weißer Blutzellen auf. Nahezu alle Kupfferzellen zeigen mehr oder weniger elektronendichte, unterschiedlich große membran-gebundene Einschlüsse, welche verschiedene Stadien des lysosomalen Blutzellabbaus repräsentieren. Sowohl in toto in Heterophagosomen inkorporierte rote und weiße Blutzellen als auch mehrere Stadien intralysosomaler Hämolyse treten häufig in einer Kupfferzelle auf. Größere Erythrozytenfragmente unterschiedlicher Elektronendichte im Stadium der Sequestrierung sind in Phagosomen bzw. Phagolysosomen integriert (Abb. 3b, P1). Kleinere elektronendichte Partikel, die sich aus einer granulären Matrix und konzentrisch angeordneten Lamellen zusammensetzen, stellen bereits fortgeschrittene Stadien des Blutzellabbaus dar (Abb. 3a, Ly; 3c, Ly), und Siderosomen (Abb. 3d, S), lipidhaltige Telolysosomen (Abb. 3d, T) sowie frei im Zytoplasma liegende elektronendichte Ferritinpartikel zeigen an, daß ein lysosomaler Erythrozytenabbau in der Zelle stattgefunden hat. Alle diese dem Blutzellabbau zuzurechnenden Zelleinschlüsse in Kupfferzellen repräsentieren den physiologischen Blutzellumsatz in fetaler Leber, welche ein wichtiges Organ fetaler Blutbildung ist.

CL-spezifische kurvilineare Profile finden sich ausschließlich in den Kupfferzellen aller untersuchten OCL-positiven Schaf-Feten (Abb. 3a, KZ). Sie unterscheiden sich deutlich von den durch lysosomalen Blutzellabbau entstandenen Zelleinschlüssen (Abb. 3a, Ly; Abb. 3b, P1; 3c, Ly; 3d, T, S), auch wenn in einigen Kupfferzellen Agglomerate aus kurvilinearen Strukturen, Siderosomen und Telolysosomen zu sehen sind.

3.2.2.3. PANKREAS VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN

Bei keinem der untersuchten Feten sind CL-spezifische Zelleinschlüsse in Pankreasgewebe zu beobachten.

In einigen sekretorisch aktiven Zellen fallen sowohl bei OCL-positiven als auch bei Kontroll-Feten aller Altersstufen elektronendichte, konzentrisch oder parallel angeordnete Membrankonfigurationen auf, die aber in gleicher Form auch in sekretorisch aktiven Nebennierenrinden- und Plazentaepithelzellen sämtlicher untersuchten Feten vorkommen und morphologisch mit den bisher beschriebenen und abgebildeten OCL-spezifischen Zelleinschlüssen keine Gemeinsamkeit aufweisen.

3.2.2.4. NIERE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN

In Nierengewebe der untersuchten Feten sind OCL-spezifische Zelleinschlüsse nicht zu erkennen.

Im Epithel der Sammelrohre treten sowohl bei OCL-positiven als auch bei Kontroll-Feten elektronendichte Zytosomen auf, die sich aber bei stärkerer Vergrößerung als physiologische sekundäre und tertiäre Lysosomen entpuppen.

3.2.2.5. NEBENNIERE VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-FETEN

Nur in einer Kapillarendothelzelle der Nebennierenrinde des 93 Tage alten und in einigen Kapillarendothelzellen des 100 Tage alten OCL-positiven Fetus befinden sich CL-spezifische kurvilineare Profile. Diese sind in Form und Größe denen ähnlich, die, in Abb. 3a mit kZ bezeichnet, in einer Kupfferschen Sternzelle dargestellt sind.

Abb. 4 : Ausschnitt aus plazentärem Gewebe eines 71 Tage trächtigen OCL-positiven Schafes

Abb. 4a : Verbindung von maternalem und fetalem Plazentaepithel: Die maternalen, hochprismatischen, elektronendichteren Plazentaepithelzellen zeigen Schlußleisten, ferner einen ausgeprägteren Mikrovillisaum als die weniger elektronendichten fetalen Epithelzellen
Vergrößerung 9 900 x

Abb. 4b : Ausschnitt aus dem apikalen Bereich einer fetalen Epithelzelle
Vergrößerung 22 080 x

fE = fetales Epithel

mE = maternales Epithel

B = Bonnetsche Stäbchen

Mi = Mikrovilli

Sl = Schlußleisten

lZ = lamelläre elektronendichte Zytosomen, die den OCL-spezifischen Zytosomen mit parallel oder konzentrisch angeordnetem Lamellenprofil ähnlich sehen (Abb.1a,b)

kZ = frei im Zytoplasma liegender kurvilinearer Zelleinschluß

M = Mitochondrion

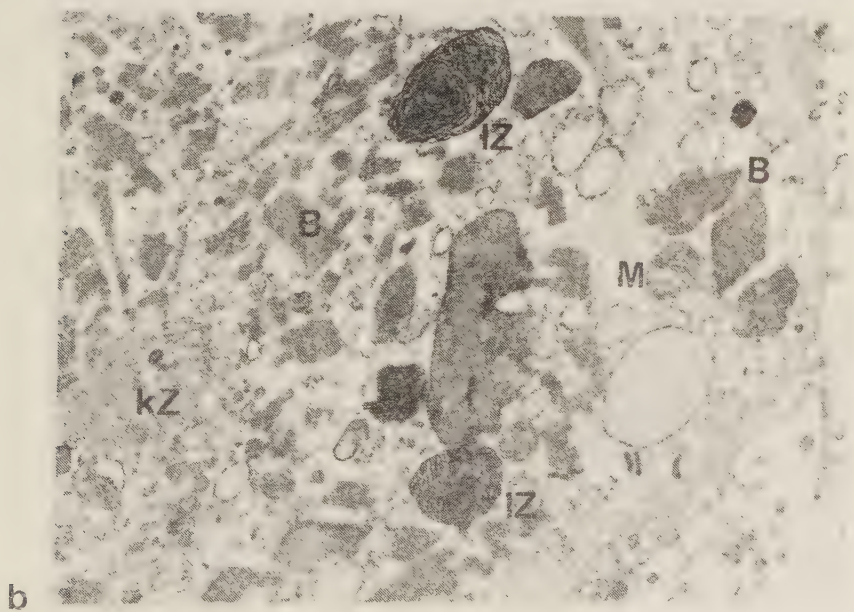
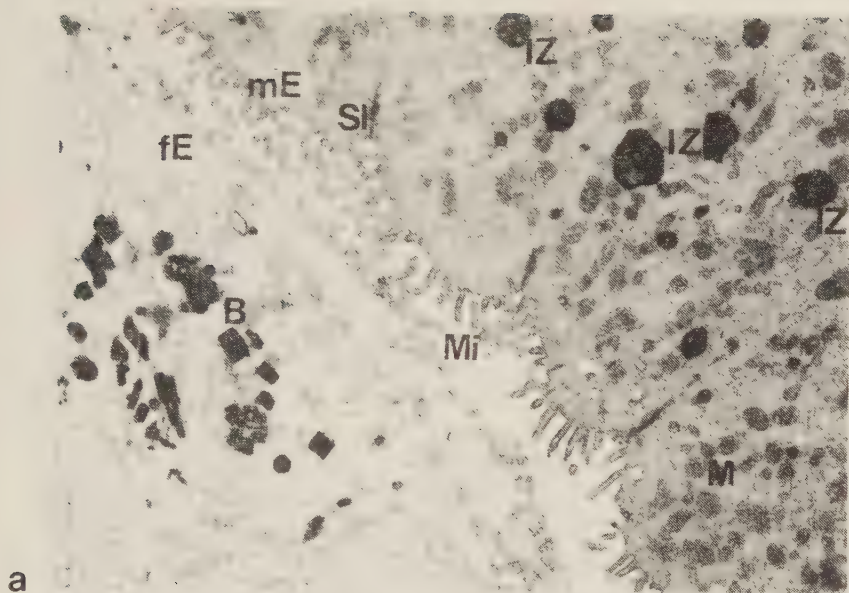


Abb. 5 : Maternales Epithel aus zwischen den Plazentomen
lokalisiertem Gewebe eines 93 Tage trächtigen
Kontroll-Schafes

Abb. 5a : Vergrößerung 7 590 x

Abb. 5b : Vergrößerung 28 290 x

Abb. 5c : Vergrößerung 35 650 x

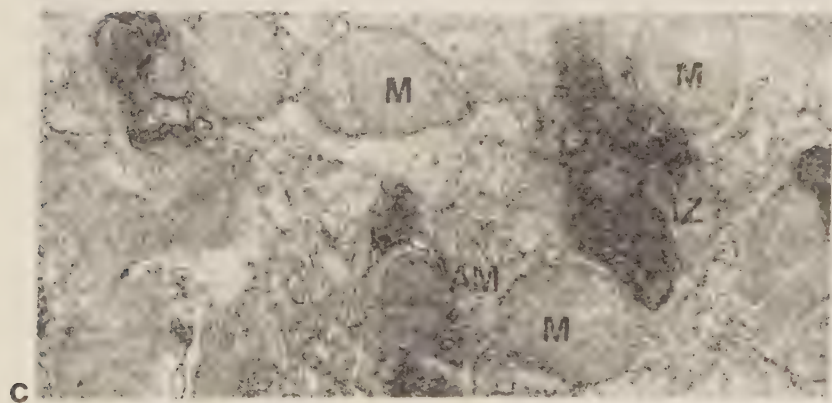
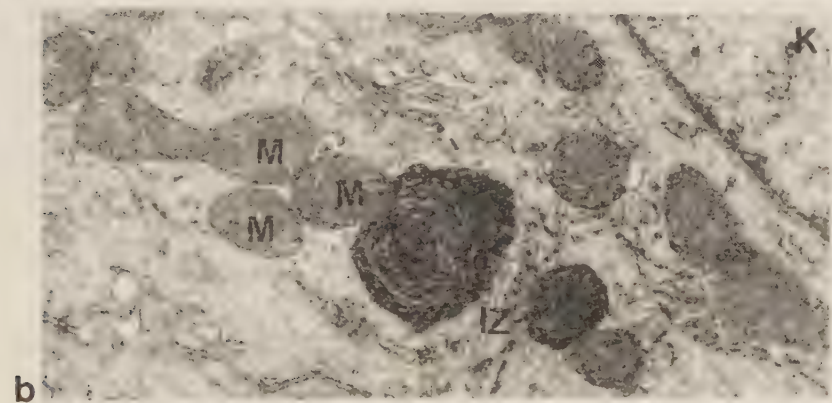
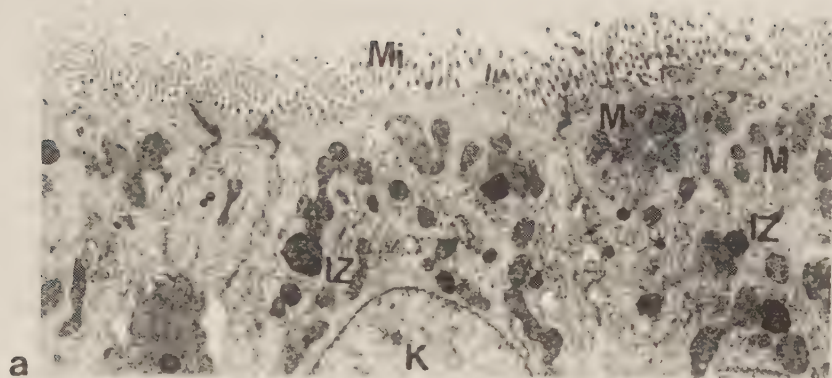
M = Mitochondrion

AM = in Autophagosom eingeschlossenes Mitochondrion

IZ = elektronendichte Zelleinschlüsse mit
parallel bzw. konzentrisch angeordnetem
Lamellenprofil

K = Zellkern

Mi = Mikrovilli



3.2.2.6. PLAZENTA VON OCL-POSITIVEN UND KONTROLL-SCHAFEN

Sämtliche im folgenden geschilderten Strukturmerkmale, mit Ausnahme der OCL-spezifischen kurvilinearen Profile, sind in allen untersuchten Plazentaprobe zu finden, die von 61-120 Tage trächtigen OCL- und Kontroll-Schafen entnommen worden waren. Untersucht wurden Ultradünnschnitte von Proben aus der Hiluszone von Plazentomen und von Proben, die aus zwischen den Plazentomen befindlichem Gewebe stammen. In beiden Zonen der Plazenta erscheint das maternale Epithel wesentlich elektronendichter (Abb. 4a, **mE**) als das fetale (=Trophoblasten-) Epithel (Abb. 4a, **fE**). Letzteres ist auch an Hand zahlreicher parakristalliner, elektronendichter Zeileinschlüsse (=Bonnetsche Stäbchen, Abb. 4a, b, **B**) deutlich vom maternalen Epithel zu unterscheiden. Weitere im Trophoblastenepithel vorkommende elektronendichte Einschlüsse verschiedener Gestalt und Größe können auf die physiologischerweise im Epithel der Chorionzotten stattfindende Erythrophagozytose und den sich daran anschließenden lysosomalen Blutzeilabbau zurückgeführt werden.

In dem zwischen den Plazentomen lokalisierten Plazentagewebe sind keine Extravasate und auch keine auf Erythrophagozytose hinweisenden Zeileinschlüsse zu sehen. Hier treten in allen untersuchten Proben von OCL-positiven und Kontroll-Schafen verschiedener Trächtigkeitsstadien (im Zeitraum zwischen 61 und 120 Tagen) apikal sowohl im maternalen als auch im fetalen Epithel zahlreiche elektronendichte Zytosomen auf (Abb. 4a, b, **1Z**; Abb. 5a, b, c, **1Z**), die verstreut zwischen den Mitochondrien (Abb. 4, 5, **M**) lokalisiert sind. Die meisten dieser Zeileinschlüsse haben etwa die Größe benachbarter Mitochondrien. Einzelne sind drei- bis viermal so groß. Ihre aus parallel oder konzentrisch angeordneten Lamellenkonfigurationen zusammengesetzte Innenstruktur, die bisweilen auch elektronendichte Granula aufweist, läßt diese Zeileinschlüsse dem lamellären Typ der OCL-spezifischen Zytosomen (Abb. 1a, b, **1Z**) sehr ähnlich sehen.

Frei im Zytoplasma des fetalen Epithels liegende und bisweilen auch von einer Doppelmembran umgebene OCL-spezifische kurvilineare Profile sind in Plazentom-Proben und in Proben von zwischen den Plazentomen liegendem Plazentagewebe von 71 und 100 Tage trächtigen OCL-Tieren zu sehen (Abb. 4b, **kz**). Diese kurvilinearen Zelleinschlüsse unterscheiden sich sowohl von den meist mitochondriengroßen lamellären Zytosomen als auch von den in der Regel größeren, im Verlauf des lysosomalen Blutzellabbaus entstandenen elektronendichten Zelleinschlüssen.

Zahlreiche diesen Zelleinschlüssen benachbarte und in Autophagosomen eingeschlossene Mitochondrien sind ebenfalls von elektronendichten, konzentrisch angeordneten Lamellenbündeln umgeben. Diese kommen apikal in maternalen (Abb. 5c, **AM**) und fetalen Epithelzellen sowohl in OCL-positiven als auch in Kontrollplazenten, vorwiegend aber in zwischen den Plazentomen liegenden Arealen vor.

3.2.2.7. LYMPHOZYTEN DES PERIPHEREN BLUTES ERWACHSENER SCHAFE

Weder in Ultradünnschnitten des (auch einige Thrombo- und Erythrozyten enthaltenden) "buffy coat" noch in Ultradünnschnitten der Lymphozytenanreicherung der fünf OCL-positiven Mutterschafe sind CL-spezifische Einschlüsse in weißen Blutzellen zu finden.

3.2.2.8. TABELLE VII

3.2.2.8. TABELLE VII:

Übersicht über Vorkommen, Lokalisation, Größe, Anzahl und Feinstruktur der ausschließlich in Organgewebe von OCL-positiven Feten vorgefundenen Zelleinschlüsse in Abhängigkeit vom Alter der Feten bzw. vom Trächtigkeitsstatus der OCL-Schafe.

OCL-pos. Gewebe	Alter in Tagen	Lokalisation	Größe	Anzahl pro Zelle	Feinstruktur
Groß- u. Kleinhirn	62	Kapillarendothelzellen	wie Mitochondrien	einige	lamellär
Groß- u. Kleinhirn	71	Kapillarendothelzellen angrenzende Neuronen	wie Mitochondrien maximal ein Viertel des Zellkerns	einige ein bis zwei	lamellär großgranulär-lamellär oder kurvilinear
Groß- u. Kleinhirn	78	Kapillarendothelzellen Neuronen	wie Mitochondrien maximal ein Viertel des Zellkerns	zahlreiche ein bis drei	lamellär kurvilinear oder fingerabdruckartig
Groß- u. Kleinhirn	93, 100	Kapillarendothelzellen große Neuronen	wie Mitochondrien wie Mitochondrien	zahlreiche zahlreiche	lamellär, fingerabdruckartig großgranulär-lamellär oder kristalloid
		große Neuronen	maximal wie Zellkern	ein bis zwei	kurvilinear-rectilinear-kristalloid

Leber	62, 71, 78, 93, 100	Kupfferzellen	maximal wie Zell- kern	mehrere	kurvilinear
Pankreas	-	-	-	-	-
Niere	-	-	-	-	-
Nebenniere	93, 100	Kapillarendothel- zellen	maximal ein Vier- tel des Zellkerns	mehrere	kurvilinear
Plazenta	71, 78, 93, 100	Trophoblasten- epithel	ca. dreimal so groß wie Mito- chondrien	mehrere	kurvilinear
Lymphozyten	-	-	-	-	-

3.2.2. 9. VERGLEICH DER AUS OCL-GEWEBEN ISOLIERTEN MITOCHONDRIEN MIT DENEN AUS KONTROLL-GEWEBEN

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von Mitochondrien können keine Unterschiede zwischen den Isolaten aus OCL-Geweben und denen aus Kontroll-Geweben festgestellt werden.

3.2.2.10. VERGLEICH DER AUS OCL-GEWEBEPROBEN ISOLIERTEN SUBMITOCHONDRIALEN PARTIKEL MIT DENEN AUS KONTROLL-GEWEBEN

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von negativ kontrastierten submitochondrialen Partikeln gleichen die Isolate aus OCL-Geweben (Abb. 6a) denen aus Kontrollgeweben.

Die mitochondriale ATP-Synthase besteht morphologisch und biochemisch aus zwei deutlich voneinander unterscheidbaren Anteilen: Dem knopfförmig aus der Membran in das mitochondriale Zytoplasma hineinragenden, sogenannten F₁-Komplex und dem in der Innenmembran verankerten, sogenannten F₀-Komplex (dessen eine von vier oder fünf Untereinheiten, zumindest als Fragment, Hauptbestandteil der OCL-spezifischen Zytosomen sein dürfte, siehe 2.10.4.2. und Abb. 6b, 3). Im Sonikator werden innere und äußere mitochondriale Membranen durch Vibration der Schallwellen gesprengt, wobei die in der Membran verankerten Enzyme erhalten bleiben. Es bilden sich sogenannte "inside-out"-Partikel, d.h. die Innenseite der mitochondrialen Innenmembran wird nach außen gekehrt und die F₁-Komplexe der ATP-Synthase ragen in Form von kleinen Knöpfen nach außen (Abb. 6a, F₁; 6b, 2).

Bei negativ kontrastierten, aus OCL-Geweben isolierten submitochondrialen "inside-out"-Partikeln können morphologisch keine Besonderheiten hinsichtlich der Anordnung der F₁F₀-Komplexe der mitochondrialen ATP-Synthase wahrgenommen werden.

3.2.2.11. VERGLEICH DER ISOLIERTEN OCL-ZYTOSOMEN MIT ISOLIER- TEN MITOCHONDRIEN UND SUBMITOCHONDRIALEN PARTIKELN

Bei der Untersuchung von Dünnschnitten der Mitochondrienisolate und der Isolate submitochondrialer Partikel kann keine Strukturverwandtschaft mit den OCL-Zytosomen festgestellt werden.

Auch negativ kontrastierte frisch isolierte submitochondriale Partikel zeigen keine Ähnlichkeit mit auf gleiche Weise präparierten OCL-Zytosomen. Die deutlich sichtbaren, in regelmäßigen Abständen aus der inneren Mitochondrienmembran nach außen vorstehenden Knöpfe, die die Fl-Komplexe der ATP-Synthase darstellen (Abb. 6a, Fl), fehlen bei den OCL-Zytosomen.

Abb. 6a : Aus Lebergewebe eines zweijährigen OCL-Schafes isolierte negativ kontrastierte submitochondriale Partikel

Vergrößerung 144 000 x

- F1** = punktförmige F1-Fragmente der ATP-Synthase
iM = durch Ultraschallbehandlung rupturierte und nach außen gekehrte mitochondriale Innenmembran

Abb. 6b/1 : Teil eines schematisierten Mitochondrions

am = mitochondriale Außenmembran

iM = mitochondriale Innenmembran mit "pilzförmigen" ATP-Synthase-Komplexen

6b/2 : Schematisiertes, submitochondriales "inside-out" Partikel mit durch Ultraschallbehandlung nach außen gekehrten F1F0-Komplexen der ATP-Synthase

F1 = "rundes" F1-Fragment der ATP-Synthase

F0 = membrangebundenes F0-Fragment der ATP-Synthase

6b/3 : Ausschnitt aus Abb. 6b/1 bzw. 6b/2, der grobschematisch die Anzahl der Untereinheiten des mitochondrialen ATP-Synthase-Komplexes darstellt

F1 = s.o.

F0 = s.o.

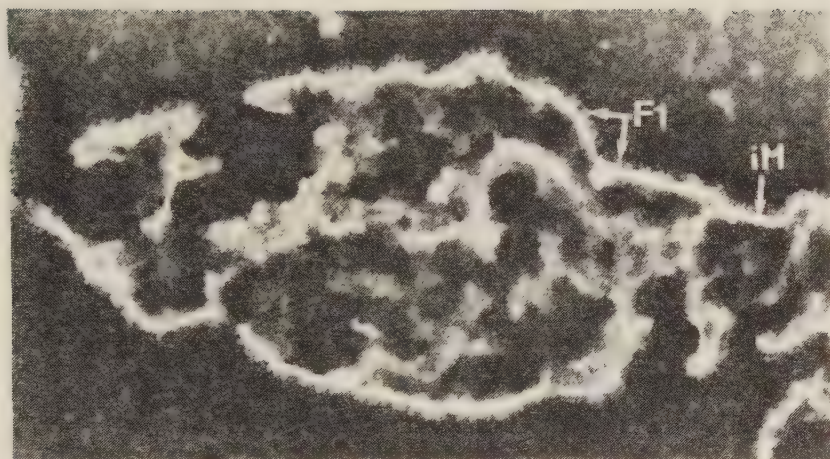
$\alpha\beta\gamma$
 $\delta\epsilon$ = fünf bekannte F1-Untereinheiten

OSCP = zwei bekannte Untereinheiten des Stiel-
F6 fragmentes der ATP-Synthase

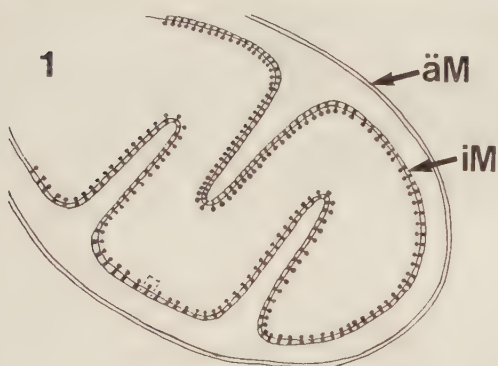
DCCD = eine der vermutlich vier Untereinheiten des F0-Fragmentes, deren N-terminaler Sequenzabschnitt sich im krankheitsspezifischen Lipopigment bei OCL und juveniler humaner CL spezifisch anreichert (DCCD besagt, das Proteinoligomer wird durch Dizylohexylkarbodiimidbindung markiert)

Abb. 6b/1, 6b/2 u. 6b/3 sind in Anlehnung an SENIOR, 1979 und DARNELL et al., 1986 gezeichnet und nach WALKER et al., 1987 ergänzt.

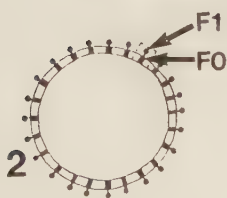
a



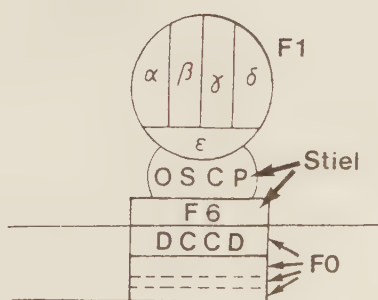
1



2



3



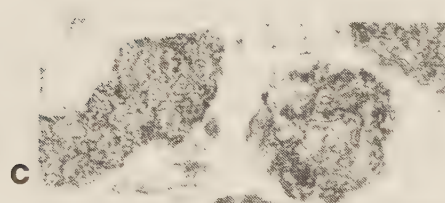
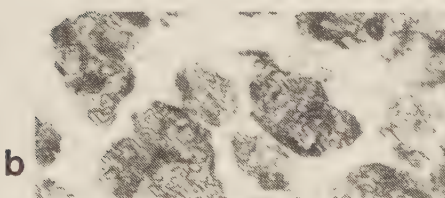
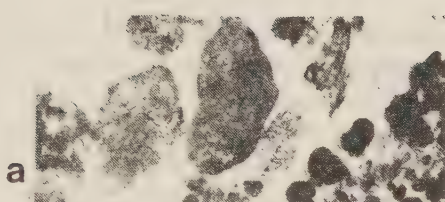
b

Abb. 7 : Isolate OCL-spezifischer Zytosomen aus Gehirn,
Pankreas und Niere eines zweijährigen OCL-
Schafes

7a : Aus Hirngewebe isolierte OCL-Zytosomen
Vergrößerung 45 000 x

7b : Aus Pankreasgewebe isolierte OCL-Zytosomen
Vergrößerung 45 000 x

7c : Aus Nierengewebe isolierte OCL-Zytosomen
Vergrößerung 45 000 x



4. DISKUSSION

4.1. HISTOLOGIE UND HISTOCHEMIE

Nur im Gehirn des 100 Tage alten OCL-Fetus ließen sich Sudan-Schwarz-B-, PAS- und Luxol-Fast-Blue-positive autofluoreszierende Zelleinschlüsse nachweisen.

Die 61 bis 100 Tage alten Kontroll-Feten zeigten mit den gewählten Darstellungsmethoden keinerlei Zelleinschlüsse im Hirngewebe. Daher wird angenommen, daß die Sudan-Schwarz-B- und PAS-positiven autofluoreszierenden, aber nicht Luxol-Fast-Blue-positiven Zelleinschlüsse der 93 und 78 Tage alten OCL-Feten sowie die nur durch positive Sudan-Schwarz-B- und Autofluoreszenzreaktionen nachweisbaren Zelleinschlüsse im Gehirn des 71 Tage alten Fetus ebenfalls als krankheitsspezifisch zu werten sind.

Autofluoreszierende und wohl auch einige der Sudan-Schwarz-B- und PAS-positiven Zelleinschlüsse, die aber nicht Luxol-Fast-Blue-positiv reagierten, traten im Lebergewebe der 93 und 100 Tage alten OCL-Feten auf und werden als krankheitsspezifisch angesehen, da im Lebergewebe von Kontroll-Feten keine autofluoreszierenden, sondern nur sudanophile und PAS-positive Zelleinschlüsse gefunden wurden.

Allein Nebennierengewebe des 100 Tage alten OCL-Fetus zeigte sowohl Sudan-Schwarz-B-positive als auch autofluoreszierende Zelleinschlüsse, während Nebennierengewebe von Kontroll-Feten ausschließlich feine Sudan-Schwarz-B-positive Granula enthielt.

Daraus läßt sich folgern, daß vereinzelte, sehr kleine, eventuell auch erst ein frühes Stadium der lysosomalen Anreicherung bzw. des lysosomalen Umbaus darstellende OCL-Zytosomen zwar Sudan-Schwarz-B-positiv reagieren und bei Exzitation mit UV-Licht autofluoreszieren, aber nicht mit PAS und Luxol Fast Blue reagieren. Eine PAS-positive Reaktion trat im fetal-

len Gehirn zeitlich früher auf (bei den 78 und 93 Tage alten OCL-Feten) als eine Luxol-Fast-Blue-positive Reaktion (bei dem 100 Tage alten OCL-Fetus).

Weder in fetalem Pankreas- und Nierengewebe noch in Plazentagewebe konnten lichtmikroskopisch OCL-spezifische Einschlüsse gefunden werden.

Der bisher früheste lichtmikroskopische Nachweis von OCL-spezifischen Zytosomen gelang bei während der Geburt gestorbenen Lämmern, die im Gehirn neuronale Sudan-Schwarz-B-positive Einschlüsse zeigten (JOLLY et al., 1988).

Bei CCL-positiven Englisch-Setter-Hunden gelang der lichtmikroskopische Nachweis intraneuronaler Lipopigmentgranula im Gehirn von zwei Monate alten Welpen (KOPPANG, 1982).

An Hand der chemischen Aufschlüsselung des isolierten OCL-Lipopigments (PALMER et al., 1986a,b; 1988a) wurde auch die histochemische Reaktion von OCL-spezifischen Zelleinschlüssen im Gewebe erwachsener Schafe gedeutet. Die stark positive Reaktion mit Sudan Schwarz B soll sowohl die Lipidkomponente als auch den hohen Anteil an hydrophobem Protein reflektieren. Mit Luxol-Fast-Blue-Farbstoff lassen sich im allgemeinen Phospholipide darstellen, aber nach PEARSE (1985) soll dieser Farbstoff in fixiertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe vorwiegend Lipid-Protein-Komplexe darstellen, wie sie ja auch in isoliertem OCL-spezifischem Lipopigment gefunden wurden. PAS reagiert wahrscheinlich mit den im Lipopigment enthaltenen Kohlenhydraten und möglicherweise auch durch hydrolytische Spaltung der Monoazylglyzerophosphate mit den frei werdenden 1,2-Glykolgruppen. Die dünnschichtchromatographische Aufspaltung der aus isoliertem OCL-Lipopigment extrahierten Lipidkomponente zeigte, daß keines der mindestens 13 schwachen Fluorophore dominierte (JOLLY et al., 1987), so daß die gemessenen Absorptions- und Emissionswerte des gesamten

Lipopigmentes nur bedingt Rückschlüsse auf seine Zusammensetzung zulassen. Der nach Extraktion der Lipidkomponente übrigbleibende unlösliche Rest zeigte keine Autofluoreszenz.

Durch biochemische Analyse des aus OCL-Gewebe verschieden alter Feten isolierten Lipopigmentes ließe sich klären, ob diese im Anfangsstadium einer progressiven Akkumulation gebildeten Zelleinschlüsse überhaupt eine Kohlenhydratkomponente bzw. Monoazylglyzerophosphate enthalten oder ob zu geringe Mengen dieser Verbindungen vorhanden sind, um eine deutlich PAS-positive Reaktion auszulösen. Die gleiche Problematik gilt hinsichtlich des Phospholipid- bzw. Lipoproteingehaltes, der für die Reaktion mit Luxol Fast Blue verantwortlich gemacht wird. In diesem Zusammenhang müßte auch durch Isolierung und anschließende biochemische Aufspaltung des sich bei infantiler humaner NCL anreichernden Lipopigmentes geklärt werden, warum dieses grundsätzlich nicht Luxol-Fast-Blue-positiv reagiert (siehe 2.3.3.).

Die HE-Färbung wurde bei der lichtmikroskopischen Untersuchung fetaler Gewebe auf OCL-Zytosomen hin nur zur Orientierung im Gewebe verwendet, da OCL-spezifisches Lipopigment in HE-gefärbten Paraffinschnitten meist farblos bis schwach eosinophil erscheint.

In Übereinstimmung mit den meisten Fällen humaner NCL (ZEMAN et al., 1970) stellt sich das krankheitsspezifische Lipopigment bei vielen Formen caniner CL in HE-gefärbten Paraffinschnitten gelblich bis bräunlich dar (WILKIE u. HUDSON, 1982; MALKUSCH, 1984; CHO et al., 1986). In HE-gefärbten Paraffinschnitten von Gewebe, das von unter zweieinhalb Jahre alten Patienten mit infantiler NCL stammte, schien das Lipopigment farblos zu sein (HALTIA, 1982). Zeman und DYKEN (1969) und LAKE (1984) stellten fest, daß die gelbliche Färbung des Lipopigmentes typisch für das Finalstadium humaner NCL ist. JOLLY et al. (1988) schließen daraus, daß die Gelbfärbung sekundär durch prolongierte lysosomale Speicherung bedingt sei. Sie sehen den Wechsel von farblos nach gelblich bis

bräunlich in Analogie zu dem Farbwechsel des Alterspigments. Dieses Pigment ist nämlich zunächst auch nur elektronenmikroskopisch und histochemisch nachweisbar, bis es später seine bräunliche Eigenfarbe zeigt. Schafe erreichen das Finalstadium der Krankheit relativ früh, so daß es nach JOLLY et al.(1988) erst gar nicht zur Gelbfärbung des Lipopigmentes kommt.

4.2. ELEKTRONENMIKROSKOPIE

Elektronenmikroskopisch konnten OCL-positive Einschlüsse in fetalem Organgewebe in der Regel in früheren Trächtigkeitsstadien nachgewiesen werden als dies lichtmikroskopisch möglich war.

Es wurden sowohl in Kapillarendothelzellen des Gehirns als auch in Kupfferzellen der Leber des 62 Tage alten und damit jüngsten der untersuchten Feten krankheitsspezifische Zelleinschlüsse gefunden. Deshalb kann an Hand dieser Untersuchung keine Aussage getroffen werden, in welchem Trächtigkeitsstadium bzw. in welchem Organ sich zuerst OCL-spezifische Zelleinschlüsse ausbilden.

Weiterhin wurden CL-spezifische kurvilineare Profile in Kapillarendothelzellen der Nebenniere des 93 und des 100 Tage alten OCL-Fetus vorgefunden.

In Pankreas- und Nierengewebe der untersuchten OCL-Feten wurden weder licht- noch elektronenmikroskopisch krankheitsspezifische Zelleinschlüsse gefunden.

In Lymphozyten des peripheren Blutes erwachsener Schafe wurden im Elektronenmikroskop keine Veränderungen gesehen. Hierin unterscheidet sich die OCL von infantiler, spätinfantiler und juveniler NCL (siehe 2.2.5.4.).

Bei dem 62 Tage alten Fetus wurden in der noch undifferenzierten Rinde von Groß- und Kleinhirn OCL-spezifische Zytosomen nur in Kapillarendothelzellen gesehen (Abb. 1a). Obwohl mehrere Groß- und Kleinhirnrindenareale untersucht wurden, konnten intraneuronale Zytosomen bei dem jüngsten Feten nicht gefunden werden. Dies wirft die Frage auf, ob sich im Gehirn die Krankheit tatsächlich histologisch zuerst in Kapillarendothelzellen manifestiert oder ob in nicht in die Untersuchung einbezogenen Hirnarealen in diesem fetalen Stadium bereits veränderte Neuronen auftreten. Es fiel auf, daß die Einschlüsse in Kapillarendothelzellen zwar zahlenmäßig mit dem Alter der Feten zunahmen, aber selbst bei dem 100 Tage alten Fetus nicht die Größenordnung von benachbarten Mitochondrien überschritten (Abb. 1b). Konfigurationen aus parallel und/oder konzentrisch angeordneten Lamellen bildeten die Feinstruktur dieser meist von einer Doppelmembran umgebenen Zytosomen (Abb. 1a, b). Daneben traten in Kapillarendothelzellen einige von autophagosomalen Membranen teilweise umgebene (Abb. 1b, AM) und auch ganz in Autophagosomen eingeschlossene Mitochondrien auf, die an entsprechender Stelle bei Kontroll-Feten nicht aufgefallen waren. Kurvilineare Profile wurden in zerebralen und zerebellaren Kapillarendothelzellen nicht vorgefunden.

Der jüngste Fetus, bei dem intraneuronale Einschlüsse im Gehirn festgestellt wurden, war 71 Tage alt. Es fiel auf, daß die wenigen Neuronen, welche Zytosomen enthielten, stets Kapillaren unmittelbar benachbart waren. Bei den älteren OCL-Feten konnte die unmittelbare Nachbarschaft von pathognomonisch veränderten Kapillarendothelzellen und Neuronen nicht mehr festgestellt werden, da jeweils mehrere Neuronen in den tieferen Arealen der noch nicht ausdifferenzierten Hirnrinde unterschiedlich große Zelleinschlüsse verschiedener Struktur enthielten.

Die kleinen, meist runden, neuronalen Einschlüsse lagen stets den Mitochondrien benachbart, denen sie auch in der Größe entsprachen (Abb. 2a, b, c). Neuronale Einschlüsse gleicher Struktur und Größe wurden bei erwachsenen OCL-Schafen bisher nicht beschrieben. Eine oder mehrere elektronendichte, konzentrisch angeordnete Doppelmembranen umgaben diese kleinen Zytosomen. Von konzentrisch angeordneten elektronendichten Membranen umgebene Zellorganellen, ähnlich dem in Abb. 2c mit **Z4** bezeichneten neuronalen Zelleinschluß, werden, wenn sie vereinzelt in Zellen vorkommen, als (physiologische) Autophagosomen definiert (MARZELLA u. GLAUMANN, 1987; PFEIFER 1987; SEGLEN, 1987). Elektronendichte Zytosomen mit kristalloidem (Abb. 2b, c, d, **Z3**) und granulärem Profil, in das konzentrisch oder parallel angeordnete Lamellenbündel eingelagert sind (Abb. 2a, **Z1**, **Z2**), müssen jedoch, besonders wenn sie gehäuft in mehreren Neuronen auftreten, als pathologisch angesehen werden, zumal sie in Neuronen von Kontroll-Feten nicht vorkamen. Die einfache Struktur, welche einzelne Strukturelemente wie umgebende Membran, Matrix und darin eingelagerte Lamellenbündel noch klar erkennen läßt, weist darauf hin, daß diese kleinen Zelleinschlüsse (Abb. 2, **Z1**, **Z2**, **Z3**) ein früheres Stadium des lysosomalen Abbaus darstellen als die großen Zytosomen (Abb. 2d, **Z5**), die ein elektronendichtes Agglomerat kurvilinear, kristalloid und rektilinear konfigurierten Lamellen darstellen und den Telolysosomen zugeordnet werden dürften.

Im **Lebergewebe** aller untersuchten OCL-Feten zeigten jeweils mehrere Kupfferzellen CL-typische kurvilineare Profile (Abb. 3a, **kZ**). Zusätzlich zu den kurvilinearen Profilen traten in diesen Kupfferzellen häufig auch verschiedene lysosomale Abbaustadien phagozytierter roter und weißer Blutzellen auf, welche in gleicher Form auch in Kupfferzellen von Kontroll-Feten dargestellt wurden (Abb. 3b, **Pl**, 3c, **Ly**; 3d, **T**, **S**). Fetale Kupfferzellen zeigen einen gegenüber dem gesunden erwachsenen Individuum stark erhöhten Blutzellabbau. Fetale

Leber stellt ein wichtiges Blutbildungsorgan dar (MICHEL, 1977) und weist somit einen hohen Blutzellumsatz auf.

Phagozytierte, in Heterophagosomen bzw. Heterophagolysosomen (Abb. 3b, Pl) eingeschlossene Erythrozyten erschienen auffällig elektronendicht. Im Stadium der Sequestrierung zeigten die Lysosomen eine teils elektronendichte, teils vakuoläre Matrix, in die konzentrische Lamellenkonfigurationen eingelagert waren (Abb. 3a, Ly; 3c, Ly). Selbst dieses Stadium des lysosomalen Blutzellabbaus unterschied sich deutlich von den OCL-spezifischen kurvilinearen Profilen (Abb. 3a, kZ), die jedoch teilweise mit den Blutzellfragmente enthaltenden Lysosomen verschmolzen.

ELLEDEERS (1987) Beobachtung besagt, die Entstehung CL-spezifischer kurvilinearere Profile in Blinddarmmakrophagen von an spätinfantiler NCL Leidenden werde durch lysosomalen Erythrozytenabbau verursacht.

Diese Studie weist darauf hin, daß ELLEDEERS Beobachtung auf einer Fehlinterpretation elektronenmikroskopischer Photographien beruhen könnte. In ELLEDEERS Blinddarmmakrophagen wird ein lysosomaler Erythrozytenabbau gezeigt. Anscheinend findet parallel oder zeitlich verschoben dazu eine Genese CL-spezifischer kurvilinearere Profile statt. Zwischenstufen von beiden Prozessen können zusammen in einem Lysosom eingeschlossen werden und wurden vermutlich von ELLEDER fotografiert.

Weitgehend ähnliche, im Laufe der Erythrophagozytose entstandene Zelleinschlüsse mit "kurvilinearere" Feinstruktur wurden in der Milz gesunder Albinoratten (SIMON u. BURKE, 1970), in Kupfferzellen gesunder Ratten (TOTOVIC et al., 1980) und in Plazentaepithelzellen gesunder Schafe (MYAGKAYA u. DAEMS, 1979; MYAGKAYA et al., 1979; MYAGKAYA u. SCHELLENS, 1981) beschrieben. Die im Laufe des Erythrozytenabbaus entstandenen kurvilinearen Profile unterscheiden sich jedoch in einigen Details von den CL-spezifischen kurvilinearen Profilen. Die kurvilinearen Blutzellabbaustadien finden sich in der Regel in Lysosomen mit elektronendichter, grobgranulierter Matrix

und bilden ein sehr unregelmäßiges Muster aus mehr oder weniger gekrümmten Lamellenbündeln, während vor allem die bei spätinfantiler NCL auftretenden kurvilinearen Profile meist ein regelmäßiges "Lockenmuster" ausbilden, das nicht in eine grobgranulierte Matrix integriert ist.

Lipopigmentzeleinschlüsse mit charakteristischer, CL-spezifischer, kurvilinearere Feinstruktur wurden in den verschiedensten Zelltypen bei vielen Formen und Varianten der CL dargestellt. Bei der spätinfantilen Form dominieren kurvilineare Profile (PALO et al., 1982). Sie wurden in Neuronen der Großhirnrinde und in Fibroblasten der Haut (ARSENIO-NUNES u. GOUTIERES, 1975), in Epithelzellen ekkriner Schweißdrüsen (CARPENTER et al., 1977), in glatten Muskelzellen der Haut, in Schwannschen Zellen und in Epithelzellen verschiedener seröser Drüsen (ISHII et al., 1981) nachgewiesen.

Unter physiologischen Bedingungen phagozytieren alle diese Zellen keine Erythrozyten. Die Tatsache, daß sie dennoch Lipopigmentmaterial mit kurvilinearere Feinstruktur enthalten, deutet darauf hin, daß ELLEDERS Beobachtungen zwar diagnostischen Wert besitzen, aber nur bedingt Rückschlüsse auf ausschlaggebende pathogenetische Mechanismen der CL zulassen.

Im **fetalen Plazentaepithel** von 71, 78, 93 und 100 Tage trächtigen OCL-Schafen wurden kurvilineare Profile gefunden (Abb. 4b, **kz**). Derartige Zeleinschlüsse traten im Plazentagewebe von Kontroll-Schafen nicht auf.

Sowohl fetale als auch maternale ovine Plazentaepithelzellen enthalten physiologischerweise zahlreiche Zeleinschlüsse. Das fetale Epithel war in der Regel durch elektronendichte, meist membrangebundene balken- oder rautenförmige parakristalline Einschlüsse (Abb. 4, **B**) gekennzeichnet. Diese werden Bonnetsche Stäbchen genannt und sind vermutlich im Verlauf des Hämoglobinabbaus entstanden (MYAGKAYA u. SCHELLENS, 1981).

Weiterhin traten in Trophoblastenepithelzellen der Hiluszone der Plazentome elektronendichte Einschlüsse verschiedener Größe auf, die lysosomale Abbaustadien von Erythrozyten darstellen. Entsprechende Zelleinschlüsse sind auch in der Literatur beschrieben (MYAGKAYA u. DAEMS, 1979; MYAGKAYA et al., 1979; MYAGKAYA u. SCHELLENS, 1981). Große, oft nahezu zwei Drittel der Trophoblastenepithelzelle einnehmende Lysosomen enthalten nicht nur sequestrierte Erythrozyten-, sondern auch Leukozyten- und plazentäre Riesenzell- sowie Epithelzellfragmente. Diese teils umfangreichen, teils kleineren, sequestriert in Lysosomen eingeschlossenen Zellfragmente werden auch als Myelinfiguren angesprochen (MYAGKAYA u. SCHELLENS, 1981) und sehen den bereits in Kupfferzellen fetalen Lebergewebes dargestellten sequestrierten und lysosomal gebundenen Blutzellen (Abb. 3a, Ly; 3c, Ly) ähnlich.

Zahlreiche elektronendichte, etwa mitochondriengroße oder auch etwas größere Zelleinschlüsse mit lamellärem Profil lagen verstreut zwischen den Mitochondrien im apikalen Bereich sowohl des maternalen (Abb. 4a, 1Z; Abb. 5a, b, c, 1Z) als auch des fetalen (Abb. 4b, 1Z) Epithels aller untersuchten Plazentaprobe. Im Synzytium des Kryptenepithels oviner Plazenten später Trächtigkeitsstadien wurden "multilamellated bodies" abgebildet (BJÖRKMANN, 1965), die den oben beschriebenen und in Abb. 4a, 4b und Abb. 5 mit 1Z bezeichneten sowie in der Übersicht dargestellten entsprechen. Auf die Entstehung dieser "multilamellated bodies", die den lamellären OCL-spezifischen Zytosomen zum Verwechseln ähnlich sehen, wird in der Literatur nicht eingegangen, und sie sind bisher auch nicht im zwischen den Plazentomen lokalisierten maternalen Plazentaepithel beschrieben worden (STEVEN, 1988 pers. Mitteilg.).

Die Struktur dieser "multilamellated bodies" setzte sich aus parallel oder konzentrisch angeordneten, elektronendichten Lamellen zusammen (Abb. 4 und Abb. 5a, b, 1Z). Die größeren Zelleinschlüsse, die ein Agglomerat aus mehreren kleinen darstellten (Abb. 5c, 1Z), zeigten bisweilen auch elektronen-

dichte Granula. Diese "multilamellated bodies" waren stets inmitten zahlreicher Mitochondrien apikal im Epithel lokalisiert (Abb. 4a und Abb. 5a, 1Z). Sie waren meist Autophagosomen benachbart, die von einzelnen oder mehreren konzentrisch oder parallel angeordneten osmiophilen Membranlamellen umgebene Mitochondrien repräsentierten (Abb. 5c, AM).

SEGLEN (1987) beschreibt parallel oder konzentrisch angeordnete "Membranstapel", entsprechend dem in Abb. 1b mit M bezeichneten, welche er "Phagophoren" nennt, da sie sich im Vorstadium der Sequestrierung von Zellorganellen zu Autophagosomen befinden. Der in Abb. 5c mit AM bezeichnete Zelleinschluß zeigt ein Autophagosom, das aus einem von osmiophilen Membranen umgebenen Mitochondrion besteht. Da ähnliche Autophagosomen den "multilamellated bodies" benachbart waren und ihre Struktur sich ebenfalls aus osmiophilen Membranlamellen zusammensetzte, kann man annehmen, daß die "multilamellated bodies" in Autophago- bzw. Lysosomen eingeschlossene Mitochondrien repräsentieren.

4.3. VORSCHLÄGE FÜR DIE DURCHFÜHRUNG WEITERER UNTERSUCHUNGEN AN PLAZENTEN UND FETALEM OCL-GEWEBE

Weiterführende histochemische und immunhistochemische Untersuchungen könnten klarstellen, ob diese "multilamellated bodies" in Autophagosomen bzw. Autophagolysosomen eingeschlossene Mitochondrien darstellen. Diese Untersuchungen könnten parallel an ovinem Plazentagewebe der bereits untersuchten Trächtigkeitsstadien und an Hirngewebe von OCL-Feten durchgeführt werden. Dadurch ließe sich herausfinden, ob die Ähnlichkeit der physiologisch im Plazentaepithel auftretenden "multilamellated bodies" mit denen in OCL-positivem fetalem Hirngewebe rein morphologischer Art ist oder auf gleiche Entstehungsweise hindeutet.

Zunächst müßte durch die Darstellung der Sauren Phosphatase histochemisch geklärt werden, ob die "multilamellated bodies" den Lysosomen zuzurechnen sind oder ob es sich um Autophagosomen handelt. Letztere weisen keinen sauren pH auf und reagieren daher auch Saure-Phosphatase-negativ. Danach könnte man eine mitochondrienspezifische histochemische Reaktion anwenden, um die Aktivität mitochondrialer Enzyme in den "multilamellated bodies" zu testen. Außerdem könnte man markierte, gegen ausgewählte mitochondriale Enzyme bzw. gegen das OCL-spezifische Oligopeptid vom Molekulargewicht 3 500 (siehe 4.4.) gerichtete Antikörper einsetzen, um Aufschluß darüber zu erhalten, ob die Einschußkörper in Plazenta und fetalem OCL-Gewebe in Autophagosomen bzw. in Autophagolysosomen eingeschlossene Mitochondrien oder mitochondriale Fragmente darstellen.

Leider konnten bei einem elektronenmikroskopischen Vergleich von den aus gesundem Gewebe isolierten Mitochondrien und submitochondrialen Partikeln mit OCL-Zytosomen keine gemeinsamen Strukturmerkmale festgestellt werden. Die untersuchten OCL-Zytosomen waren jedoch aus Organen bereits klinisch kranker Schafe isoliert und vermutlich schon im Verlauf des lysosomalen Katabolismus so verändert worden, daß ihre Struktur keine Rückschlüsse auf die Morphogenese zuließ.

Die Tatsache, daß krankheitsspezifische Zelleinschlüsse erwachsener CL-kranker Individuen funktionell den tertiären Lysosomen zuzuordnen sind, die ein Endstadium des lysosomalen Katabolismus darstellen, läßt darauf schließen, daß die weitere Ausdehnung histochemischer, histologischer und immunhistochemischer Untersuchungen morphogenetisch jüngerer fetaler Zytosomen neue Erkenntnisse hinsichtlich der OCL-Pathogenese bringen könnte.

Krankheitsspezifische Zelleinschlüsse im Gewebe von NCL-Patienten (KOENIG et al., 1964; GONATAS et al., 1968; SIAKOTOS et al., 1972) und von CL-kranken erwachsenen Hunden (KOPPANG, 1982) reagierten Saure-Phosphatase-positiv und sind damit eindeutig funktional den Lysosomen zuzurechnen. Auch

der Metallgehalt der OCL-Zytosomen erwachsener Schafe weist sie als funktionsfähige Lysosomen aus (PALMER et al., 1988a). Kleine, fetale OCL-spezifische Zelleinschlüsse zeigen morphologische Ähnlichkeit mit Autophagosomen. Die Erkenntnis, ob frühe Stadien der OCL-Zytosomen Autophagosomen oder bereits Lysosomen darstellen, könnte bei der Aufklärung der Pathogenese weiterhelfen. Durch bisherige Arbeit konnte nämlich die Frage, ob die CL primär durch einen anabolen extralysosomalen oder einen katabolen lysosomalen Defekt im Zellstoffwechsel verursacht wird, noch nicht beantwortet werden.

4.4. HINWEISE AUF MÖGLICHE ZUSAMMENHÄNGE ZWISCHEN LYSO-SOMALER AKKUMULATION VON MITOCHONDRIEN UND DER MORPHO-GENESE VON OCL-ZYTOSOMEN

Alterspigment und CL-spezifisches Lipopigment besitzen erstaunlich viele gemeinsame histologische und histochemische Merkmale. Beide Lipopigmente zeigen progressive intrazelluläre lysosomale Akkumulation in den meisten Geweben des Organismus, reagieren Sudan-Schwarz-B- und PAS-positiv, autofluoreszieren im UV-Licht gelb bis grünlich und stellen sich im Elektronenmikroskop elektronendicht dar.

Die Möglichkeit, daß das Alterspigment Lipofuszin auf ähnliche Weise in der Zelle entstehen könne wie das CL-spezifische Lipopigment Ceroidlipofuszin, wird weiterhin diskutiert. Viele Autoren haben versucht, die Rolle der Mitochondrien bei der Genese des Alterspigmentes zu belegen (PAYNE, 1949; HESS, 1955; DUNCAN et al., 1960; DUNCAN u. HILD, 1960; COLCOLOUGH et al., 1972; FOSTER, 1979; SPOERRI et al., 1984; SPOERRI, 1985).

ZEMAN und DONAHUE (1963) stellten die morphologische Ähnlichkeit zwischen der tubulären Feinstruktur der bei juveniler NCL auftretenden krankheitsspezifischen Zelleinschlüsse und derjenigen von Mitochondrien fest. Sie vermuteten, die Genese der CL-Zytosomen könne bei der juvenilen Krankheit in irgendeinem Zusammenhang mit Mitochondrien stehen.

KOPPANG (1973/74) erwähnte, mit zunehmender Pigmentakkumulation nehme bei **caniner CL** die Zahl subzellulärer Organellen wie Mitochondrien und Ribosomen ab.

In glatten Hautmuskelzellen CL-positiver Dalmatiner wurden "multilamellated bodies" im Zytosol angeschnittener Mitochondrien dargestellt (MALKUSCH, 1984).

Aus Hirn-, Leber-, Nieren- und Pankreasgewebe erwachsener OCL-Schafe wurde krankheitsspezifisches Lipopigment isoliert und elektronenmikroskopisch auf Reinheit überprüft (Abb. 7a, b, c,). Der Proteingehalt betrug 65-75%, der Lipidgehalt 16-27% und der Metallanteil 1-2% (PALMER et al., 1986b; 1988a). Der Hauptanteil des geringen Kohlenhydratrestes lag in Form von dolichylpyrophosphatgebundenen Oligosacchariden vor (HALL, 1988, pers. Mitteilg). Das Fettsäuremuster der im OCL-Lipopigment enthaltenen Phospholipide entsprach demjenigen der aus Rattenlebern isolierten Lysosomen (PALMER et al., 1988a; HENNING u. HEIDRICH, 1974). Der Anteil an Neutrallipiden (Dolichol, Dolichylester, Cholesterin und Ubichinon) entsprach ebenfalls demjenigen lysosomaler Lipide (PALMER et al., 1986a).

Die gelelektrophoretische Aufspaltung sowohl von OCL-Gewebs-homogenaten als auch von isoliertem OCL-Lipopigment zeigte die stärkste Bande bei dem Molekulargewicht 3 500 sowie eine weitere diskrete Bande bei 14 800, die beide bei Kontroll-Gewebs-homogenaten nicht auftraten (PALMER et al., 1986a; 1988a). Da lysosomale Membranlipide Molekulargewichte zwischen 60 000 und 100 000 aufweisen, müssen die beiden niedermolekularen, nur im Gewebe von OCL-Schafen meßbaren Polypeptide als krankheitsspezifisch angesehen werden. Bisher wurden 40 Aminosäurereste des kleineren OCL-spezifischen Polypeptides sequenziert und als N-terminales Fragment einer Unter-einheit des lipidgebundenen F₀-Teiles der mitochondrialen protonenübertragenden ATP-Synthase identifiziert (Abb. 6b, 3, DCCD; PALMER et al., 1988b). Die gesamte in der inneren

Mitochondrienmembran verankerte Untereinheit, die aus 40 Aminosäuren besteht, hat ein Molekulargewicht von 7 608. Sie wird als größeres Vorläuferprotein mit längerer Sequenz durch wenigstens zwei nukleäre Gene codiert (GAY u. WALKER, 1985). Sowohl die Interaktion dieses an Ribosomen im Zytoplasma der Zelle synthetisierten Vorläuferproteins der Enzymuntereinheit mit Rezeptoren der äußeren Mitochondrienmembran als auch das bei der Einschleusung ins Mitochondrion vor sich gehende Abstoßen eines Teilpeptides sind wichtige Schritte bei der Synthese der lipidbindenden Untereinheit der funktionstüchtigen mitochondrialen ATP-Synthase (WALKER et al., 1987). Die Regulation der für diese Untereinheit codierenden Gene ist noch nicht erforscht. Wie die Zusammensetzung dieser Untereinheit mit anderen, durch das mitochondriale Genom codierten Untereinheiten vor sich geht, hat man auch noch nicht herausgefunden, und es ist unbekannt, wie der gesamte Enzymkomplex katabolisiert wird (PALMER, 1988, pers. Mitteilg.).

4.5. ZUR PATHOGENESE DER OCL

Da es sich bei nahezu allen CL-Formen der Ceroidlipofuszinose um autosomal rezessive Erbkrankheiten handelt, die sich zu unterschiedlichen Zeiten post partum manifestieren, ist es wahrscheinlicher, daß der genetische Defekt eine unzulängliche Aktivität entweder eines Enzyms oder eines Rezeptors verursacht, als daß unmittelbar ein die Struktur des Proteolipids codierendes Gen betroffen ist (PALMER, 1988, pers. Mitteilg.).

Bei allen anderen lysosomalen Speicherkrankheiten bekannter Pathogenese läßt die chemische Zusammensetzung des gespeicherten Materials auf den die Krankheit verursachenden Enzymdefekt schließen.

Die Tatsache, daß der Hauptanteil des sowohl bei der ovinen (PALMER et al., 1988b) als auch bei der juvenilen Form der humanen CL (PALMER, 1988, 1989, pers. Mitteilg.) gespeicherten Lipopigmentes aus Protein besteht, dessen Hauptanteil wiederum ein vom Zellkern codiertes mitochondriales Enzymfragment ausmacht, läßt mehrere Interpretationsmöglichkeiten im Hinblick auf die Pathogenese der CL zu.

- Die Forschungsergebnisse von IVY et al. (1984 a,b) deuten darauf hin, daß die auslösende Ursache der CL ein genetisch verankerter **Enzymdefekt im lysosomalen Proteinkatabolismus** sein könnte. Ratten, denen eine Dauerinfusion mit Leupeptin, einem Blocker des lysosomalen Enzyms Thiolendopeptidase, verabreicht worden war, reicherten in ihren Gehirnzellen ein Lipopigment an, dessen licht-, fluoreszenz- und elektronenmikroskopische Darstellung große Ähnlichkeit mit gewissen Formen des für CL typischen Lipopigmentes aufweist.

Eine lysosomale Proteinose könnte sowohl aus einem angeborenen Enzymdefekt bei der Proteinspaltung entstehen als auch aus einem Defekt in der Kontrolle des für eine lysosomale Protease codierenden genetischen Materials. Solche Defekte sind zwar noch nicht beschrieben worden, jedoch ist ihr Auftreten nicht gerade unwahrscheinlich, da es zahlreiche Erbkrankheiten gibt, die durch verschiedenartige Defekte im Katabolismus von Polymeren verursacht werden.

- Falls es sich bei der Ceroidlipofuszinose um einen **Enzymdefekt in der Proteolyse** handeln sollte, so muß dieser nicht unbedingt lysosomaler Natur sein, denn auch in den Mitochondrien und im Zytosol finden proteolytische Reaktionen statt (HERSHKO u. CIECHANOVER, 1982; GOLDBERG A. L., 1987; SEGLEN, 1987).

Eigene Untersuchungen haben gezeigt, daß intraneuronale krankheitsspezifische Zelleinschlüsse im Gehirn OCL-positiver Feten entsprechende Lokalisation und Größe zeigten wie benachbarte Mitochondrien, mit denen sie auch strukturverwandt erschienen.

Multilamelläre OCL-Zytosomen glichen den multilamellären Zelleinschlüssen im Plazentaepithel, welche vermutlich in Autophagosomen bzw. Autophagolysosomen eingeschlossene Mitochondrien repräsentierten. Apikal im Plazentaepithel, wo die meisten elektronendichten multilamellären Zytosomen auftraten, befanden sich auch sehr viele Mitochondrien. Vermutlich

findet in diesen stoffwechselaktiven Zellen ein rascher Umsatz an Mitochondrien statt.

Damit wäre es denkbar, daß bei OCL-behafteten Tieren auf Grund eines **mitochondrialen Rezeptordefektes** oder eines **Sequenzdefektes des Vorläuferproteins** der DCCD-Untereinheit der F₁F₀-ATP-Synthase das Gleichgewicht im mitochondrialen Stoffwechsel geringfügig gestört ist, so daß **Mitochondrien vermehrt dem lysosomalen Katabolismus anheimfallen**.

Die Formulierung einer Hypothese hinsichtlich der OCL-Pathogenese erscheint verfrüht, da noch keine Synthese zwischen biochemischen und morphologischen Untersuchungsergebnissen erreicht werden konnte.

5. A N H A N G : ORIENTIERENDES ZELLKULTUREXPERIMENT

Als Hilfe bei der weiteren Erforschung der ovinen Ceroidlipofuszinose wurde zudem ein orientierendes Zellkulturexperiment durchgeführt:

Peritoneale Mausmakrophagen wurden zusammen mit jeweils drei verschiedenen Konzentrationen an isoliertem (nach PALMER et al., 1988a), OCL-spezifischem Lipopigment inkubiert und nach bestimmten zeitlichen Abständen fixiert. Bei der licht- und fluoreszenzmikroskopischen Auswertung der Ergebnisse wurden folgende Parameter berücksichtigt: Phagozytose, Zytotoxizität und Katabolismus des Lipopigmentes.

5.1. PHAGOZYTOSE DES LIPOPIGMENTES

Das OCL-spezifische Lipopigment, das den Makrophagen in drei verschiedenen Konzentrationen angeboten worden war, wurde jeweils vollständig innerhalb von 45 Minuten phagozytiert. In den fixierten Zellen ließ sich das Lipopigment am zuverlässigsten fluoreszenzmikroskopisch unter UV-Licht oder lichtmikroskopisch nach Anfärbung mit PAS darstellen, wobei selbst winzige Granula bereits deutliche Autofluoreszenz zeigten, während erst größere Granula PAS-positiv reagierten.

5.2. ZYTOTOXIZITÄT DES LIPOPIGMENTES

Die von ZEMAN und SIAKOTOS (1973) beobachtete und von RIDER und RIDER (1988) in Frage gestellte zytotoxische Wirkung geringer Mengen von intrazellulär in vivo angereichertem Lipopigment konnte in diesem Versuch in vitro nicht bestätigt werden.

Ein vorzeitiges Abrunden, Zusammenklumpen und Absterben von Zellen trat nur bei solchen Kulturen auf, die der höchsten Lipopigmentkonzentration im Medium ausgesetzt worden waren und deren Zellen bereits nach 45 Minuten völlig mit phagozytiertem Lipopigmentmaterial angefüllt waren.

Peritoneale Mausmakrophagen überleben, unter Standardbedingungen kultiviert, etwa zwei Wochen. Innerhalb dieser Zeit treten ein ungefähr festgelegter Zellverlust und bestimmte, genau beschriebene morphologische Zellveränderungen auf (BENNET 1966; HERSCOWITZ u. COLE, 1981).

Die für diesen Versuch kultivierten Mausmakrophagen, denen die niedrigste Konzentration der drei Lipopigmentpräparationen verabreicht worden war und die nach Phagozytose der gesamten im Medium suspendierten Menge nach 45 Minuten eine lockere Ansammlung von Lipopigmentgranula im Zytoplasma angereichert hatten, zeigten während der zweiwöchigen Kultivierung ein der Norm entsprechendes Aussehen und Verhalten.

5.3. KATABOLISMUS DES LIPOPIGMENTES

Dieses Experiment eignete sich nicht, um einen Katabolismus des OCL-spezifischen Lipopigmentes darzustellen, da auch die Kontrollmakrophagen, denen kein Lipopigment verabreicht worden war, in ihrem Zytoplasma Lipopigmentmaterial akkumulierten, so daß nach zweiwöchiger Kultivierung die Versuchsgruppen weder licht- noch fluoreszenzmikroskopisch von den Kontrollgruppen zu unterscheiden waren.

Eine intrazelluläre Lipopigmentakkumulation wurde auch bei unter Standardbedingungen kultivierten humanen Gliazellen (THAW et al., 1984; GUNILLA et al., 1985) sowie bei Zellkultur-Neuronen von Ratten (SPOERRI u. GLEES, 1973) demonstriert. Elektronenmikroskopisch wurde dieses Lipopigment als Alterspigment identifiziert. Seine progressive Akkumulation ging mit einer zahlenmäßigen Abnahme der Mitochondrien einher, mit denen es auch strukturverwandt zu sein schien (SPOERRI u. GLEES, 1973). Erhöhung der Sauerstoffspannung über 20% sowie Zugabe von Oxidantien beschleunigte, Beigabe von Antioxidantien verzögerte diesen sogenannten "Zellalterungsprozeß in vitro" (THAW et al., 1984).

Da der Versuch nur orientierenden Charakter hat und keine für die Abklärung der Pathogenese wichtigen Erkenntnisse erbrachte, wurde er in dieser Form kurz zusammengefaßt.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Ceroidlipofuszinosen (CL) stellen eine heterogene Gruppe von Erbkrankheiten dar, die histologisch durch lysosomale Lipopigmentanreicherung in Neuronen und in einer Vielzahl anderer Zellen charakterisiert ist. Nur im ZNS treten klinisch relevante Sekundärläsionen auf. Blindheit, Bewegungs- und Verhaltensstörungen sowie ein frühzeitiger Tod bestimmen den Krankheitsverlauf. Bio- und Morphogenese des krankheitsspezifischen Lipopigmentes sind noch unbekannt. Auch konnte der auslösende Defekt im Erbmateriail noch nicht lokalisiert werden.

An der Massey University in Neuseeland wird zu Forschungszwecken eine Herde ingezüchteter mit oviner CL (OCL) behafteter Schafe gehalten. Diese ovine Form gleicht in wesentlichen Zügen der juvenilen Form der humanen CL.

Gehirn-, Leber-, Nieren-, Nebennieren- und Pankreasproben von fünf 61-100 Tage alten OCL-positiven Schaf-Feten wurden licht-, fluoreszenz- und elektronenmikroskopisch untersucht und mit entsprechenden Proben von fünf 62-120 Tage alten Kontroll-Feten verglichen. Ebenso untersucht wurden zugehörige Plazentaprobe. Aus dem venösen Blut der OCL-Mutterschafe isolierte Leukozyten wurden elektronenmikroskopiert.

Licht- und fluoreszenzmikroskopisch wurde krankheitsspezifisches Lipopigment im Gehirn von 71 Tage alten und älteren OCL-Feten, in der Leber ab dem fetalen Alter von 93 Tagen und in der Nebenniere des 100 Tage alten Fetus vorgefunden.

Elektronenmikroskopisch wurden krankheitsspezifische Zytosomen im Gehirn und in Kupfferzellen der Leber aller untersuchten OCL-Feten sowie in der Nebenniere der 93 und 100 Tage alten OCL-Feten und im fetalen Plazentaepithel ab dem 71. Trächtigkeitstag nachgewiesen.

Bei der Untersuchung fetaler Kupfferzellen stellte sich heraus, daß, im Gegensatz zu ELLEDERS (1987) Hypothese, CL-spezifische kurvilineare Profile wahrscheinlich nicht im Laufe des lysosomalen Erythrozytenabbaus entstehen.

Multilamelläre Zelleinschlüsse im Gehirn der OCL-Feten glichen den apikal im Epithel normaler oviner Plazenten auftretenden multilamellären Zytosomen. Letztere sind vermutlich im Laufe der Autophagozytose von Mitochondrien entstanden.

Da OCL-spezifisches Lipopigment größtenteils aus Anreicherung eines Proteinoligomers besteht, welches sequenzidentisch mit einem Fragment einer Untereinheit der mitochondrialen ATP-Synthase ist, wurden aus OCL- und Kontroll-Geweben isolierte Mitochondrien und submitochondriale Partikel krankheitsspezifischen Zytosomen erwachsener OCL-Schafe gegenübergestellt. Das Fehlen vergleichbarer Strukturmerkmale wurde darauf zurückgeführt, daß OCL-Zytosomen erwachsener Schafe Endprodukte des lysosomalen Katabolismus darstellen und deshalb keine Strukturmerkmale mehr aufweisen, die Rückschlüsse auf ihre Morphogenese zulassen.

Es werden daher weiterführende histologische, histochemische und immunhistochemische Untersuchungen fetaler OCL-Zytosomen vorgeschlagen, um eine Antwort auf die Frage zu finden, ob OCL-Zytosomen als Folge einer extralysosomalen anabolen oder einer lysosomalen bzw. extralysosomalen katabolen Zellstoffwechselstörung entstehen.

Schließlich wurden in einem orientierenden Zellkulturversuch murine peritoneale Makrophagen mit einer Suspension aus Medium und isoliertem OCL-Lipopigment inkubiert. Letzteres wurde vollständig phagozytiert und erwies sich als nicht zytotoxisch. Das Experiment eignete sich nicht zum Nachweis eines intrazellulären Lipopigmentkatabolismus, da sich innerhalb von zwei Wochen Alterspigment in den kultivierten Zellen anreicherte, welches sich weder licht- noch fluoreszenzmikroskopisch von OCL-Lipopigment unterschied.

7. SUMMARY

A STUDY IN OVINE CEROID-LIPOFUSCINOSIS: MORPHOLOGICAL INVESTIGATION OF FETAL AND PLACENTAL TISSUES AS WELL AS LEUCOCYTES AND SUBCELLULAR STRUCTURES

The ceroid-lipofuscinoses (CL) are a heterogenous group of inherited diseases of man and animals characterized by the lysosomal storage of lipopigments within neurons and a variety of other cells. Secondary degenerative lesions leading to clinical disease are limited to the nervous system. The main symptoms are blindness, behavioural abnormalities, motor dysfunction and premature death. The bio- and morphogenesis of the stored lipopigment are still enigmatic, and the suspected genetic disorder has not been localized yet.

At Massey University, New Zealand, an inbred strain of sheep affected with ovine CL (OCL) has been maintained for research purposes as the ovine disease closely resembles the juvenile form of human CL.

Tissue samples of brain, liver, kidney, adrenal gland and pancreas from five OCL-affected fetuses aged 61-100 days were investigated by light, fluorescence and electron microscopy and compared to control samples from five fetuses aged 62-120 days. Placental samples of the same gestational status and origin were also investigated and electron microscopy was done on leucocytes isolated from blood of the OCL-affected ewes.

In OCL-fetuses disease-specific lipopigment was detected by light and fluorescence microscopy in the brain from the age of 71 days, in the liver from the age of 93 days and in the adrenal gland from the age of 100 days.

By electron microscopy brain tissue and Kupffer cells of all the investigated OCL-fetuses showed disease-specific cytosomes. These storage bodies were seen in the adrenal gland from the age of 93 days and in the fetal epithelium of the placenta from the 71st day of gestation.

Electron microscopy of fetal Kupffer cells demonstrated that OCL-specific curvilinear profiles do probably not originate from lysosomal degradation of erythrocytes in contradiction to ELLEDER'S (1987) hypothesis.

The multilamellar cytosomes found in brain tissue of OCL-fetuses were very similar to the multilamellar inclusion bodies demonstrated in normal placental epithelium. The latter were likely to originate from autophagocytosis of mitochondria.

The major part of the OCL-lipopigment consists of a protein oligomer identical with part of a subunit of mitochondrial ATP-synthase. Therefore isolated mitochondria and submitochondrial particles of OCL-affected and control tissues were electronmicroscopically compared to storage bodies isolated from adult OCL-sheep. The lack of similarity was attributed to the fact that OCL-cytosomes from adult sheep represent end products of lysosomal digestion and therefore do not exhibit any structural details referring to their morphogenesis.

Further histological, histochemical, and immunohistochemical investigations of fetal OCL-cytosomes were proposed in order to answer the controversial question whether OCL-cytosomes originate from an anabolic lysosomal or from a catabolic extralysosomal or rather lysosomal defect of cellular metabolism.

In an additional cell culture experiment murine peritoneal macrophages were exposed to isolated OCL-specific lipopigment which was phagocytosed and did not prove cytotoxic. The experiment was not designed to demonstrate any intracellular catabolism of the OCL-lipopigment as within two weeks there was a substantial intracellular accumulation of age pigment. Neither by light nor by fluorescence microscopy the latter could be differentiated from OCL-lipopigment.

8. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ANDREWS, J.M., SORENSSEN, V., CANALLA, P.A., PRICE, H.M.,
MENKES, J.H.:

Late infantile neurovisceral storage disease with curvilinear
bodies.

Neurology 21, 207-217 (1971)

APPLEBY, E.C., LONGSTAFFE, J.A., BELL, F.R.:

Ceroid lipofuscinosis in two Saluki dogs.

J. Comp. Pathol. 92, 375-380 (1982)

ARMSTRONG, D., VAN WORMER, D.E., NEVILLE, H., DIMMITT, S.,
CLINGAN, F.:

Thyroid peroxidase deficiency in Batten-Spielmeyer-Vogt
disease.

Arch. Pathol. 99, 430-435 (1975)

ARMSTRONG, D., WEHLING, C., VAN WORMER, D.:

Diagnosis of Batten's disease from urinary sediment. A brief
report.

Pathol. 9, 39-41 (1977)

ARMSTRONG, D., NEVILLE, H., SIAKOTOS, A., WILSON, G.,
WEHLING, C., KOPPANG, N.:

Morphological and biochemical abnormalities in a model of
retinal degeneration: Canine ceroid-lipofuscinosis (CCL).

In: Neurochemistry of the retina. BAZAN, N.G., LOLLEY, R.N.
(eds)

Pergamon Press, London (1980)

ARMSTRONG, D., VISTNES, A.I.:

Free radicals in Batten's disease.

In: Free radicals, aging and degenerative disease.

ARMSTRONG, D. (ed)

Liss, A.R. Inc., pp 293-305 (1986)

ARSENIO-NUNES, M.L., GOUTIERES, F.:

An ultrastructural study of the skin in the diagnosis of the
infantile and the late infantile types of ceroid-
lipofuscinosis.

J. Neurol. Neurosurg. Psych. 38, 994-999 (1975)

AWASTHI, Y.C., MORRIS, H.H., SCHOCHET, S.S., POWELL, G.F.,
SCHMALSTIEG, F.C., SRIVASTAVA, S.K.:

Studies in neuronal ceroid-lipofuscinosis: Leukocyte
peroxidase deficiency in a patient with neuronal ceroid-
lipofuscinosis (Jansky-Bielschowsky type).

J. Lab. Clin. Med. 89, 770-780 (1977)

BENNETT, B.:

Isolation and cultivation in vitro of macrophages from
various sources in the mouse.

Am. J. Pathol. 48, 165-182 (1966)

BICHSEL, P., VANDEVELDE, M.:

Un cas de lipofuscinose ceroide chez un berger de
Yougoslavie.

Schweiz. Arch. Tierheilkd. 124, 413-418 (1982)

BJÖRKMAN, N.:

Fine structure of the ovine placentome.

J. Anat. (Lond) 99, 283-297 (1965)

BOEHME, D., COTTREL, J., LEONBERG, S., ZEMAN, W.:

A dominant form of neuronal ceroid-lipofuscinosis.

Brain 94, 745-760 (1971)

BOURNE, G.M.:

Lipofuscin.

Progr. Brain Res. 40, 187-201 (1973)

BRAAK, H., GOEBEL, H.H.:

Loss of pigment-laden stellatae cells: a severe alteration of the isocortex in juvenile neuronal ceroid-lipofuscinosis.

Acta Neuropath. 42, 52-57 (1978)

BRAAK, H., GOEBEL, H.H.:

Pigmentarchitectonic pathology of the isocortex in juvenile neuronal ceroid-lipofuscinosis: axonal enlargement in layer III a b and cell loss in layer V.

Acta Neuropath. 46, 79-83 (1979)

BRAAK, H., BRAAK, E., STRENGE, H., KOPPANG, N.:

Canine ceroid-lipofuscinosis, a model for ageing in the human isocortex.

Gerontol. 30, 215-217 (1984)

BRADLEY, R., DUFFEL, S.J.:

The pathology of the skeletal and cardiac muscles of cattle with Xanthosis.

J. Comp. Pathol. 92, 85-97 (1982)

BRUNNING, R.D., PARKING, J.G.:

Ultrastructural studies of parallel tubular arrays in human lymphocytes.

Amer. J. Pathol., 59-70 (1975) (Zitiert nach Nakano et al., 1979)

BURCAR, P., ARMSTRONG, D., KOPPANG, N., NEVILLE, H.:

detection of canine Batten Disease with the EEG.

EEG Clin. Neurophysiol. 42, 120-124 (1977)

CARPENTER, S., KARPATI, G., ANDERMANN, F.:

Specific involvement of muscle, nerve and skin in late infantile and juvenile amaurotic idiocy.

Neurology 22, 170-186 (1972)

CARPENTER, S., KARPATI, G., ANDERMANN, F., JACOB, J.C., ANDERMANN, E.G.:

The ultrastructural characteristics of the abnormal cytosomes in Batten-Kufs disease.

Brain 100, 137-156 (1977)

- CEUTERICK, C.L., MARTIN, J.J., CAESAR, P., EDGAR, G.W.F.:
The diagnosis of infantile generalized ceroid-lipofuscinosis
(type Hagberg-Santavuori) using skin biopsy.
Neuropaed. 7, 250-260 (1976)
- CHIO, K.S., TAPPEL, A.L.:
Synthesis and characterization of the fluorescent products
derived from malondialdehyde and amino acids.
Biochim. 8, 2821-2827 (1969)
- CHIO, K.S., RISS, U., FLETCHER, B., TAPPEL, A.L.:
Peroxidation of subcellular organelles; formation of
lipofuscin-like fluorescent pigments.
Sci. 166, 1535-1536 (1969)
- CHO, D-Y., LEPOLD, H.W., RUDOLPH, R.:
Neuronal ceroidosis (ceroid-lipofuscinosis) in a Blue Heeler
dog.
Acta Neuropathol. 69, 161-164 (1986)
- COLCOLOUGH, H.L., HACK, M.H., HELMY F.M., VAUGHN, G.E.,
VEITH, D.C.:
Some histochemical, biochemical and morphological
observations relating to lipofuscin and mitochondria.
Histochem. 43, 58-109 (1972)
- CUMMINGS, J.F., DE LAHUNTA, A.:
An adult case of canine ceroid-lipofuscinosis.
Acta Neuropathol. 39, 43-51 (1977)
- DAHME, E., CHRISTOMANOU, H., BILZER, T., ANZIL, A.P.:
Ceroid-lipofuscinosis in the Dalmatian dog.
Joint Meeting German-Scandinavian Neuropathologists,
Turku/Finland, June 3-4 (1983)
- DARNELL, J., LODISH, H., BALTIMORE, D. (eds):
Molecular cell biology.
Scientific American Books, Inc., New York, Teil III, Kap. 21,
pp 911-979 (1986)
- DAWSON, G.:
Approaches to the detection of neuronal ceroid-lipofuscinosis
in cultured skin fibroblasts.
In: Ceroid-lipofuscinosis (Batten's disease). ARMSTRONG, D.,
RIDER, J.A., KOPPANG, N. (eds)
Elsevier Biomed. Press, pp 229-240 (1986)
- DAYAN, A.D., TRICKEY, R.J.:
Thyroid involvement in juvenile amaurotic family idiocy
(Batten's disease).
Lancet 2, 296-297 (1970)
- DE BAECQUE, C.M.:
Diagnosis of neuronal ceroid-lipofuscinosis by electron
microscopy of urinary bladder sediment.
N. Engl. J. Med. 292, 1408 (1975)

- DE BAECQUE, C. M., POLLACK, M. A., SUZUKI, K.:
Late infantile neuronal storage disease with curvilinear bodies. Systemic pathologic features.
Arch. Pathol. Lab. Med. 100, 139-144 (1976)
- DEN TANDT, W.R., MARTIN, J.J.:
Peroxidase in ceroid-lipofuscinosis.
J. Neurol. Sci. 38, 191-193 (1978)
- DOLMAN, C.L., CHANG, E.:
Visceral lesions in amaurotic idiocy with curvilinear bodies.
Arch. Pathol. Lab. Med. 94, 425-430 (1972)
- DOLMAN, C.L., CHANG, E., MAC LEOD, P.M.:
Skin punch biopsies and lymphocytes in the diagnosis of lipidoses.
Canad. J. Neurol. Sci. 2, 67-73 (1975)
- DOLMAN, C.L., MAC LEOD, P.M., CHANG, E.L.:
Lymphocytes and urine in ceroid-lipofuscinosis.
Arch. Pathol. Lab. Med. 104, 487-490 (1980)
- DOM, R., BRUCHER, J.M., CEUTERICK, C., CARTON, H., MARTIN, J.J.:
Adult ceroid-lipofuscinosis (Kufs disease) in two brothers. Retinal and visceral storage in one; diagnostic muscle biopsy in the other.
Acta Neuropathol. 45, 57-72 (1979)
- DONAHUE, S., ZEMAN, W., WATANABE, I.:
Electron microscopical observation in Batten's disease.
In: Inborn disorders in sphingolipid metabolism. ARONSON, S.M., VOLK, B.W. (eds)
Pergamon Press, Oxford, pp 3-22 (1966)
- DUFFEL, S.J., EDWARDSON, R.:
Xanthosis in cattle.
Vet. Rec. 102, 269-270 (1978)
- DUFFY, P.E., KORNFELD, M., SUZUKI, K.:
Neurovisceral storage disease with curvilinear bodies.
J. Neuropathol. Exp. Neurol. 27, 351-370 (1968)
- DUNCAN, D., HILD, W.:
Mitochondrial alterations in cultures of the central nervous system as observed with the electron microscope.
Ztschr. f. Zellforsch. 51, 123-137 (1960)
- DUNCAN, D., NALL, D., MORALES, R.:
Observations on the fine structure of old age pigment.
J. Gerontol. 15, 366-372 (1960)
- DYKEN, P.R., TREFZ, J.:
Fallacy of ultrastructural classification of the neuronal ceroid-lipofuscinoses.
Clin. Res. 27, A 814 (1979)

- ELFENBEIN, I.B., CANTOR, H.F.:
Late infantile amaurotic idiocy with multilamellar cytosomes:
an electron microscopic study.
J. Pediatr. 75, 253-264 (1969)
- ELLEDER, M.:
Reflections based on the ultrastructure and histochemistry of
appendical and liver biopsies in neuronal ceroid-
lipofuscinosis and lysosomal storage diseases.
Adv. Biosci. 64, 227-248 (1987)
- FARRELL, D.F., SUMI, S.M.:
Skin punch biopsies in the diagnosis of juvenile ceroid-
lipofuscinosis with leucocyte peroxidase essay.
Arch. Neurol. 34, 39-44 (1977)
- FINKEL, R.S., BRESNAN, M.J., KOLODNY, E.H., SOTREL, A.,
FULTON, A.B.:
Neuronal ceroid-lipofuscinosis. A diagnostic approach.
Ann. Neurol. 14, 366 (1983)
- FISKE, R.A., STORTS, R.W.:
Neuronal ceroid-lipofuscinosis in Nubian goats.
Vet. Pathol. 25, 171-173 (1988)
- FOSTER, C.S.:
The brown bowel syndrome: a possible smooth muscle
mitochondrial myopathy?
Histopathol. 3, 1-9 (1979)
- GABIG, T.G.:
Leucocyte abnormalities.
Med. Clin. N. A. 64, 647-666 (1980)
- GADOTH, N.:
Neuronal ceroid-lipofuscinosis (Batten's disease): diagnostic
approach of therapeutic trial.
Metabol. Ophthalmol. 2, 193-196 (1978)
- GARG, H., AWASTHI, Y., NEFF, W.A., ANSARI, N.H., SRIVASTAVA,
S.K.:
Studies in NCL: Enzymes of liver and brain tissues involved
in the defence against oxidative damage.
J. Neurosci. Res. 7, 305-311 (1982)
- GAY, N.J., WALKER, J. (1985):
Two genes encoding the bovine mitochondrial ATP-synthase
proteolipid specify precursors with different import
sequences and are expressed in a tissue specific manner.
Embo J. 4, 3519-3524 (1985)
- GOEBEL, H.H., FIX, J.D., ZEMAN, W.:
The fine structure of the retina in neuronal ceroid-lipo-
fuscinosis.
Amer. J. Ophthalmol. 77, 25-39 (1974)

- GOEBEL, H.H., ZEMAN, W., PILZ, H.:
Significance of muscle biopsies in neuronal ceroid-lipofuscinosis.
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 38, 985-993 (1975)
- GOEBEL, H.H., PILZ, H.H., GULLOTTA, F.:
The protracted form of juvenile neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Acta Neuropathol. 36, 393-396 (1976)
- GOEBEL, H.H.G, KOPPANG, N., ZEMAN, W.:
Ultrastructure of the retina in canine ceroid-lipofuscinosis.
Ophthalmol. Res. 11, 65-72 (1979a)
- GOEBEL, H.H., ZEMAN, W., PATAL, R.K., LEONARD, H.G.:
On the ultrastructural diversity and essence of residual bodies in neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Mech. Ageing Devt. 10, 53-70 (1979b)
- GOEBEL, H.H., KOEHNEKE, B., KOPPANG, N.:
Ultrastructural studies on the retina in human and canine neuronal ceroid-lipofuscinosis and other lysosomal disorders.
Birth Defects 18, 241-253 (1982)
- GOEBEL, H.H., KOEHNEKE, B., KOPPANG, N., ARMSTRONG, N.:
Ultrastructural studies on the retinal pigment epithelium in the neuronal ceroid-lipofuscinoses.
Ophthalmic Paediatr. Genet. 3, 29-37 (1983)
- GOEBEL, H.H., DAHME, E.:
Retinal ultrastructure of neuronal ceroid-lipofuscinosis in the Dalmatian dog.
Acta Neuropathol 68, 224-229 (1985)
- GOEBEL, H.H., DAHME, E.:
Ultrastructure of retinal pigment epithelial and neural cells in the neuronal ceroid-lipofuscinosis affected dalmatian dog.
Retina 6, 179-187 (1986)
- GOEBEL, H.H., BILZER, T., DAHME, E., MALKUSCH, F.:
Morphological studies in canine (Dalmatian) neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Am. J. Med. Genet. Suppl. 5, 127-139 (1988)
- GOLDBERG, D.E.:
Biogenesis of lysosomal enzymes: Oligosaccharide chains.
In: *Lysosomes: Their role in protein breakdown.*
GLAUMAN, H.L., BALLARD, F.J. (eds)
Academic Press, London, pp 163-191 (1987)
- GOLDBERG, A.L.:
The ATP-dependent pathway for protein degradation in mitochondria.
In: *Lysosomes: Their role in protein breakdown.*
GLAUMAN, H., BALLARD, F.J. (eds)
Academic Press, London, pp 715-722 (1987)

- GOLDMANN, J.E., HOROUPIAN, D.S., ROSE, A., WISNIEMS, K., RAPIN, L., JOHANSON, A.:
Infantile ceroid-lipofuscinosis with minimal cortical pathology (a new variant).
J. Neuropathol. Exp. Neurol. 38, 315 (1979)
- GONATAS, N.K., GAMBETTI, P., BAIRD, H.:
A second type of late infantile amaurotic idiocy with multilamellar cytosomes.
Neuropathol. Exp. Neurol. 27, 371-389 (1968)
- GRAYDON, R.J.:
The retinal pathology of ovine neuronal ceroid-lipofuscinosis
Master Thesis of Vet. Sci., Massey University, Neuseeland (1984)
- GRAYDON, R.J., JOLLY, R.D.:
Ceroid-lipofuscinosis (Batten's disease): Sequential electrophysiologic and pathologic changes in the retina of the ovine model.
Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 25 294-301 (1984)
- GREEN, P.D., LITTLE, P.B.:
Neuronal ceroid-lipofuscinosis storage in Siamese cats.
Can. J. Comp. Med. 38, 207-212 (1974)
- GREENWOOD, R.S., NELSON, J.S.:
Atypical neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Neurol. 28, 710-717 (1978)
- GUNILLA, C., JOHANSSON, A., THAW, H.H.:
Can oxygen tension influence the rate of lipofuscin in cultivated human glial cells?
Arch. Biol. (Bruxelles) 96, 345 (1985)
- GUTTERIDGE, J.M.C., WESTERMARCK, T., SANTAVUORI, P.:
Iron and oxygen radicals in tissue damage: implications for the neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Acta Neurol. Scand. 68, 365-370 (1983)
- GUTTERIDGE, J.M.C.:
Age pigments and free radicals: fluorescent lipid complexes formed by iron and copper-containing proteins.
Biochim. Biophys. Acta 843, 144-148 (1985)
- HAGBERG, B., HALTIA, M., SOURANDER, P., SVENNERHOLM, L., EEG-OLAFSEN, O.:
Polyunsaturated fatty acid lipidosis. Infantile form of so-called neuronal ceroid-lipofuscinosis. Clinical and morphological aspects.
Acta Paediatr. Scand. 63, 753-763 (1974)
- HAGEN, L.:
Lipid dystrophic changes in the central nervous system in dogs.
Acta Pathol. Microbiol. Scand. 33, 22-35 (1953) (Zitiert nach KOPPANG, N., 1982)

- HALL, N.A., PATRICK, A.D.:
Accumulation of phosphorylated dolichol in several tissues in ceroid-lipofuscinosis (Batten Disease).
Clin. Chim. Acta 170, 323-330 (1987)
- HALL, N.A., PATRICK, A.D.:
Accumulation of dolichol-linked oligosaccharides in ceroid-lipofuscinosis (Batten disease).
Am. J. Med. Gen. Suppl. 5, 221-232 (1988)
- HALL, N.A.:
Pers. Mitteilg. an PALMER, D.N. vom Mai 1988
- HALTIA, M., RAPOLA, J., SANTAVUORI, P., KERAENEN, A.:
Infantile type of so-called neuronal ceroid-lipofuscinosis. Part 2. Morphological and biochemical studies.
J. Neurol. Sci. 18, 269-285 (1973a)
- HALTIA, M., RAPOLA, J., SANTAVUORI, P., KARAENEN, A.:
Infantile type of so-called neuronal ceroid-lipofuscinosis. Histologic and electron microscopic studies.
Acta Neuropathol. 26, 157-170 (1973b)
- HALTIA, M.:
Infantile ceroid-lipofuscinosis: Neuropathological aspects. In: Ceroid-lipofuscinosis (Batten's disease). ARMSTRONG, D., KOPPANG, N., RIDER, A. (eds).
Elsevier Biomedical Press, pp 105-113 (1982)
- HALTIA, M.:
Infantile neuronal ceroid-lipofuscinosis: an inherited disorder with disturbed dolichol metabolism.
Chimica Scripta 27, 89-91 (1987)
- HAYNES, M.E., MANSON, J., CARTER, R.F., ROBERTSON, E.:
Electronmicroscopy of skin and peripheral blood lymphocytes in infantile (Santavuori) neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Neuropaed. 10, 245-263 (1979) (Zitiert nach LAKE, 1984)
- HAYWARD, A.H.S.:
Xanthosis, an abnormal pigmentation of cattle.
Vet. Rec. 102, 96-97 (1978)
- HEISKALA, H., GUTTERIDGE, J.M.C., WESTERMARCK, T., ALANEN, T., SANTAVUORI, P.:
Bleomycin-detectable iron and Phenanthroline-detectable copper in the cerebrospinal fluid of patients with neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Am. J. Med. Genet. Suppl. 5, 193-202 (1988)
- HENNING, R., HEIDRICH, H.G.:
Membrane lipids of rat liver lysosomes prepared by free flow electrophoresis.
Biochim. Biophys. Acta 345, 326-335 (1974)

- HENRY, J.G., STEVENS, S.M.B.:
Neuronal ceroid-lipofuscinosis in the amaurotic retardate-electron microscopic conformation.
Aust. J. Ophthalmol. 10, 161-166 (1982)
- HERMAN, M.M., RUBINSTEIN, L.J., MACHANN, G.M.:
Additional electron microscopic observations on two cases of Batten-Spielmeyer-Vogt disease (neuronal ceroid-lipofuscinosis).
Acta Neuropathol. 17, 85-102 (1971)
- HERSCOWITZ, H.B., COLE, D.E.:
Maintenance of macrophages in culture.
In: Manual of macrophage methodology. HERSCOWITZ, H.B., HOLDEN, H., BELLANTI, J.A., GHAFAR, A. (eds)
Marcel Dekker Inc., New York, pp 161-169 (1981)
- HERSHKO, A., CIECHANOVER, A.:
Mechanisms of intracellular protein breakdown.
Ann. Rev. Biochem. 51, 335-364 (1982)
- HESS, A.:
The fine structure of young and old spinal ganglia.
Anat. Rec. 123, 399-423 (1955)
- HOOVER, D.M., LITTLE, P.B., COLE, W.D.:
Neuronal ceroid-lipofuscinosis in a mature dog.
Vet. Pathol. 21, 359-361 (1984)
- HOROUPIAN, D.S., ROSS, R.T.:
Pigment variant of neuronal ceroid-lipofuscinosis (Kufs disease).
Can. J. Neurol. Sci. 4, 67-75 (1977)
- IKEDA, K., KOSAKA, K., OYANAGI, S., YAMADA, K.:
Adult type of neuronal ceroid-lipofuscinosis with retinal involvement.
Clin. Neurol. 3, 237-239 (1984)
- ISHII, M., TAKAHASHI, K., HAMADA, T., TANAKA, A., HIGAMI, S.:
Cutaneous ultrastructural diagnosis of neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Br. J. Derm. 104, 581-585 (1981)
- IVY, G.O., SCHOTTLER, F., WENZEL, J., BAUDRY, M., LYNCH, G.:
Inhibitors of lysosomal enzymes: Accumulation of lipofuscin-like dense bodies in the brain.
Sci. 226, 985-987 (1984a)
- IVY, G.O., WOLFE, L.S., HUSTON, M.B., LYNCH, G.:
Lysosomal enzyme inhibitors cause the accumulation of ceroid-lipofuscin and dolichols in rat brain.
Neurosci. 10, 885 (1984b)

JANMAAT, A.:
Ovine ceroid-lipofuscinosis.
Master Thesis of Vet. Sci., Massey University, Neuseeland
(1979)

JERVIS, G.A., PULLARKAT, R.K.:
Pigment variant of ceroid-lipofuscinosis.
Neurology 28, 500-503 (1978)

JOHANSSON, E., LINDH, U., ALANEN, T., WESTERMARCK, T., HEIS-
KALA, H., SANTAVUORI, P., ELOVAARA, I.:
Elemental profiles of blood cells in certain neurological
disorders.
Med. Biol. 62, 139-142 (1984)

JOLLY, R.D., WEST, D.M.:
Blindness in Southhamphshire sheep. A neuronal ceroid-
lipofuscinosis.
N. Z. Vet. J. 24, 123 (1976)

JOLLY, R.D., HARTLEY, W.J.:
Storage diseases of domestic animals.
Aust. Vet. J. 53, 1-8 (1977)

JOLLY, R.D., BUBE, A., HOBMAN, B.L., BARNS, G.E., PALMER,
D.N.:
Ovine ceroid-lipofuscinosis: Chemical constituents of the
lipopigment, their pathogenic significance and similarities
to other lipopigments.
Arch. Biol. (Bruxelles) 96, 359 (1985)

JOLLY, R.D., BARNS, G., BUBE, A., PALMER, D.N.:
Ovine ceroid-lipofuscinosis: Chemical constituents of the
lipopigment, their pathogenic significance and similarities
to age pigment.
Adv. Biosci. 64, 197-215 (1987)

JOLLY, R.D., SHIMADA, A., CRAIG, A.S., KIRKLAND, K.B.,
PALMER, D.N.:
Ovine ceroid-lipofuscinosis II: Pathologic changes
interpreted in light of biochemical observations.
Am. J. Med. Genet. Suppl. 5, 159-170 (1988)

JOLLY, R.D.:
Pers. Mitteilg. vom Mai 1988

JOOSTEN, E., GABREELS, F., STADHOUDERS, A., BOLMERS, D.,
GABREELS-FESTEN, A.:
Involvement of sural nerve in neuronal ceroid-lipofuscinosis:
report of two cases.
Neuropaed. 4, 98-110 (1973)

JUBB, K.V.F., KENNEDY, P.C.:
Pathology of domestic animals, 3rd ed., vol. 1
Academic Press, London, Sydney, p 162 (1985)

- KELLER, R.K., ROTTLER, G.D., CAFMEYER, N., ADAIR, W.L.JR.:
Subcellular localisation and substrate specificity of dolichol
kinase from rat liver.
Biochim. Biophys. Acta 719, 118-125 (1982)
- KELLER, R.K., ARMSTRONG, D., CRUM, F.C., KOPPANG, N.:
Dolichol and dolichylphosphate levels in brain tissue from
English Setters with ceroid-lipofuscinosis.
J. Neurochem. 42, 1042-1047 (1984)
- KOENIG, H., MAC DONALD, T., NELLHAUS, S.:
Morphological and histochemical studies of neurolipidosis by
light and electron microscopy.
J. Neuropathol. Exp. Neurol. 23, 191 (1964)
- KOPPANG, N.:
Familiäre Glykosphingolipidose des Hundes (juvenile
amaurotische Idiotie).
Ergebn. Allgem. Pathol. Anat. 47, 1-43 (1966)
- KOPPANG, N.:
Neuronal ceroid-lipofuscinosis in English Setters. Juvenile
amaurotic familial idiocy (A.F.I.) in English Setters.
J. Small Anim. Pract. 10, 639-644 (1970)
- KOPPANG, N.:
Canine ceroid-lipofuscinosis. A model for human ceroid-
lipofuscinosis and aging.
Mech. Ageing Devt. 2, 421-445 (1973/74)
- KOPPANG, N.:
Ceroid-lipofuscinosis in the English Setter - A review.
In: Ceroid-lipofuscinosis (Batten's disease). ARMSTRONG, D.,
KOPPANG, N., RIDER, J.A. (eds)
Elsevier Biomedical Press, pp 201-216 (1982)
- KRISTENSON, K., RAYNER, S., SOURANDER, P.:
Visceral involvement in juvenile amaurotic idiocy.
Acta Neuropathol. 4, 421-424 (1965)
- LAKE, B.D.:
Histochemical and ultrastructural studies in the diagnosis of
inborn errors of metabolism.
In: Records of the Adelaides Children's Hospital pp 335-337
(1977)
- LAKE, B.D., CAVANAGH, N.P.C.:
Early juvenile Batten's disease.
J. Neurol. Sci. 36, 265-271 (1978)
- LAKE, B.D.:
Lysosomal enzyme deficiencies.
In: Greenfield's Neuropathology. ADAMS, J.H., CORSELLIS,
J.A.N., DUCHEN, L.W. (eds) 4th ed.
Edward Arnold Ltd., London, pp 491-572 (1984)

- LEONBERG, S.C., ARMSTRONG, D., BOEHME, D.:
A century of Kufs disease in an American family.
In: Neuronal ceroid-lipofuscinosis (Batten's disease).
ARMSTRONG, D., KOPPANG, N., RIDER, J.A. (eds)
Elsevier Biomed. Press, pp 87-94 (1982)
- LIBERT, J., MARTIN, J.J., CEUTERICK, C.:
Protracted and atypical forms of ceroid-lipofuscinosis.
In: Ceroid-lipofuscinosis (Batten's disease). ARMSTRONG, D.,
KOPPANG, N., RIDER, J.A. (eds)
Elsevier Biomed. Press, pp 45-59 (1982)
- MAC LEOD, P.M., DOLMAN, C.L., NICKEL, R.E., CHANG, E., NAG,
S., ZONANA, J., SILVEY, K.:
Prenatal diagnosis of neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Am. J. Med. Gen. 22, 781-789 (1985)
- MAC LEOD, P.M., NAG, S., BERRY, C.:
Ultrastructural studies as a method of prenatal diagnosis of
neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Am. J. Med. Gen. Suppl. 5, 93-97 (1988)
- MALKUSCH, F.:
Beitrag zur bioptischen Diagnose der Neuronalen Ceroid-
lipofuszinose (NCL) des Hundes.
Vet. Med. Diss., München, FRG, (1984)
- MARZELLA, L., GLAUMAN, H.:
Autophagy, micrautophagy and crinophagy as mechanisms for
protein degradation.
In: Lysosomes: Their role in protein breakdown. GLAUMAN, H.,
BALLARD, F.J. (eds)
Academic Press, London, pp 319-370 (1987)
- MAYHEW, I.G., JOLLY, R.D., PICKETT, B.T., SLACK, P.M.:
Ceroid-lipofuscinosis (Batten's disease): Pathogenesis of
blindness in the ovine model.
Neuropathol. Appl. Neurobiol. 11, 273-290 (1985)
- MELLMANN, I., FUCHS, R., HELENIUS, A.:
Acidification of the endocytic pathways.
Ann. Rev. Biochem. 55, 663-700 (1986)
- MICHEL, G.:
Embryologie der Haustiere.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, (1977)
- MILEY, C.E., GILBERT, E.F., FRANKE, T.D., O'BRIEN, J.F.,
CHUN, R.W.M.:
Clinical and extraneural histologic diagnosis of neuronal
ceroid-lipofuscinosis.
Neurology 28, 1008-1012 (1978)
- MYAGKAYA, G., SCHELLENS, J.P.M., VREELING-SINDELAROVA, H.:
Lysosomal breakdown of erythrocytes in the sheep placenta.
Cell Tiss. Res. 197, 79-94 (1979)

- MYAGKAYA, G., DAEMS, W.T.:
Fusion of erythrolysosomes in epithelial cells of the sheep placenta.
Cell Tiss. Res. 203, 209-221 (1979)
- MYAGKAYA, G., SCHELLENS, J.P.M.:
Final stages of erythrophagocytosis in the sheep placenta.
Cell Tiss. Res. 214, 501-508 (1981)
- NAKANO, T., SAKAI, H., KINOSHITA, J., YAGISHITA, S., ITOH, Y.:
The fine structure of blood cells in ceroid-lipofuscinosis (Spielmeyer-Vogt's disease).
Neuropaed. 10, 57-66 (1979)
- NEDERGARD, J., CANNON, B.:
Oxidative Phosphorylation.
In: Methods of enzymology, Vol. IV, Biomembranes, part F Bioenergetics, FLEISCHER, S., PACKER, L (eds)
Academic Press, pp 1-39 (1979)
- NG YIN KIN, N.M.K., PALO, J., HALTIA, M., WOLFE, L.S.:
High levels of brain dolichols in neuronal ceroid-lipofuscinosis and senescence.
J. Neurochem. 40, 1465-1473 (1983)
- O'BRIEN, J.S., BERNETT, J., VEATH, M.L., PAA, D.:
Lysosomal storage disorders. Diagnosis by ultrastructural examination of skin biopsy specimens.
Arch. Neurol. 33, 592-599 (1975)
- PALMER, D.N., HUSBANDS, D.R., WINTER, P.J., BLUNT, J.W., JOLLY, R.D.:
Ceroid lipofuscinosis in sheep. I. Bis(monoacylglycero)phosphate, dolichol, ubiquinone, phospholipids, fatty acids, and fluorescence in liver lipopigment lipids.
J. Biol. Chem. 261, 1766-1772 (1986a)
- PALMER, D.N., BARNS, G., HUSBANDS, D.R., JOLLY, R.D.:
Ceroid lipofuscinosis in sheep. II. The major component of the lipopigment in liver, kidney, pancreas, and brain is a low molecular weight protein.
J. Biol. Chem. 261, 1773-1777 (1986b)
- PALMER, D.N., MARTINUS, R.D., BARNS, G., REEVES, R. D., JOLLY, R.D.:
Ovine ceroid-lipofuscinosis I: Lipopigment composition is indicative of a lysosomal proteinosis.
Am. J. Med. Gen. Suppl. 5, 141-158 (1988a)
- PALMER, D.N.:
Persönliche Mitteilungen vom Juni 1988 und vom März 1989.

- PALMER, D.N., MARTINUS, R.D., COOPER, S.M., MIDWINTER, G.G., REID, J.C., JOLLY, R.D.:
Ovine ceroid-lipofuscinosis: The major lipopigment protein is an N-terminal portion of the lipid binding subunit of mitochondrial ATP-Synthase.
J. Biol. Chem.: In Press (1988b)
- PALO, J., ELOVAARA, I., HALTIA, M., NG YIN KIN, N.M.K., WOLFE, L.S.:
Infantile neuronal ceroid-lipofuscinosis: Isolation of storage material.
Neurol. 32, 1035-1038 (1982)
- PAYNE, F.:
Changes in the endocrine glands of the fowl with age.
Am. J. Pathol. 22, 495-412 (1949)
- PEARSE, A.G.E.(ed):
Histochemistry - Theoretical and applied. Vol. 2: Analytical technology, 4th ed.
Churchill Livingstone, pp 554-556, pp 786-849 (1985)
- PETELL, J.K., DOYLE, D.:
Turnover of plasma-membrane proteins.
In: Lysosomes: their role in protein breakdown. GLAUMAN, H., BALLARD, F.J. (eds)
Academic Press, London, pp 519-560 (1987)
- PFEIFER, U.:
Functional morphology of lysosomes.
In: Lysosomes: their role in protein breakdown. GLAUMAN, H., BALLARD, F.J. (eds)
Academic Press, London, pp 3-60 (1987)
- PILZ, H., O'BRIEN, J.S., HEIPERTZ, R.:
Human saliva peroxidase: Microanalytical isoelectric fractionation and properties in normal persons and in cases with neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Clin. Biochem. 9, 85-88 (1976)
- PILZ, H., GOEBEL, H.H.:
Peroxidase levels in the parotid gland in juvenile neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Neuropathol. Appl. Neurobiol. 3, 93-101 (1977)
- PROOPS, R., GREEN, S.H.:
Neuronal ceroid-lipofuscinosis and arthropathy. A family study.
J. Med. Genet. 18, 101-104 (1981)
- PULLARKAT, R.K., REHA, H., PATEL, V.K., GOEBEL, H.H.:
Docosahexaenoic acid levels in brain of various forms of ceroid-lipofuscinosis.
In: Ceroid-lipofuscinosis (Batten's disease). ARMSTRONG, D., KOPPANG, N., RIDER, J.A. (eds)
Elsevier Biomed. Press, pp 335-343 (1982)

- PULLARKAT, R.K., REHA, H., PULLARKAT, P.S.:
Age-associated increase of free dolichol levels in mice.
Biochim. Biophys. Acta 793, 494-496 (1984)
- PULLARKAT, R.K.:
Dolichols and phosphatidyl-dolichols in ageing and in neurological disorders.
Chemica Scripta 27, 85-88 (1987)
- PULLARKAT, R.K., KIM, K.S., SKLOWER, S.L., PATEL, V.K.:
Oligosaccharyl-Diphospho-dolichols in the ceroid-lipofuscinoses.
Am. J. Med. Genet. Suppl. 5, 243-251 (1988)
- RAC, R., GIESECKE, P.R.:
Lysosomal storage disease in Chihuahuas.
Aust. Vet. J. 51, 403-404 (1975)
- RAPOLA, J., HALTIA, M.:
Cytoplasmic inclusions in the vermiform appendix and skeletal muscle in two types of so-called neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Brain 96, 833-840 (1973)
- RAPOLA, J., SANTAVUORI, P., SAVILAHTI, E.:
Suction biopsy of rectal mucosa in the diagnosis of infantile and juvenile types of so-called neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Hum. Pathol. 105, 352-360 (1984)
- RAPOLA, J., SANTAVUORI, P., HEISKALA, H.:
Placental pathology and prenatal diagnosis of infantile type of neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Am. J. Med. Genet. Suppl. 5, 99-103 (1988)
- READ, W.K., BRIDGES, C.H.:
Neuronal lipodystrophy. Occurrence in an inbred strain of cattle.
Pathol. Vet. 6, 235-243 (1969)
- REDDY, T.S., ARMSTRONG, D., BAZAN, N.J.:
Arachidonic acid and other long-chain fatty acids in canine ceroid-lipofuscinosis. Distribution in glycolipids, metabolism, and pathophysiological correlations.
Neurochem. Pathol. 3, 83-97 (1985)
- RESKE-NIELSEN, E., BAANDRUP, U., BJERREGAARD, P., BRUUN, J.:
Cardiac involvement in juvenile amaurotic idiocy - a specific heart muscle disorder. Histological findings in 13 patients.
Acta Pathol. Microbiol. Scand. 89, 357-365 (1981)
- RIDER, J.A., RIDER, D.L.:
Batten disease: Past, present and future.
Am. J. Med. Genet. Suppl. 5, 21-26 (1988)

- RODER, J.C.:
 Characterization of a murine model (Beige) for a natural killer cell immunodeficiency in the Chediak-Higashi syndrome of man.
 Cornell Vet. 46, 532-537 (1982)
- SANTAVUORI, P., HALTIA, M., RAPOLA, J.:
 Infantile type of so-called neuronal ceroid-lipofuscinosis. Developm. Med. Child Neurol. 16, 644-653 (1974)
- SANTAVUORI, P., HEISKALA, H., WESTERMARCK, T., SAINIO, K., MOREN, R.:
 Experience over 17 years with antioxidant treatment in Spielmeyer-Sjögren disease.
 Am. J. Med. Genet. Suppl. 5, 265-274 (1988)
- SCHWENDEMANN, G.:
 Lymphocytic inclusions in juvenile type of generalized ceroid-lipofuscinosis. An electron microscopic study.
 Acta Neuropathol. 36, 327-338 (1976) (Zitiert nach LAKE, 1984b)
- SEBALD, W.:
 Biogenesis of mitochondrial ATPase.
 Biochim. Biophys. Acta 463, 1-27 (1977)
- SEGLIN, P.O.:
 Regulation of autophagic protein degradation.
 In: Lysosomes: their role in protein breakdown. GLAUMAN, H., BALLARD, F.J. (eds)
 Academic Press, London, pp 371-414 (1987)
- SEITELBERGER, F., SIMMA, K.:
 On the pigment variant of amaurotic idiocy.
 In: Cerebral Sphingolipidoses. ARONSON, S.M., VOLK, B.W. (eds)
 Mac Graw-Hill, New York, pp 1324-1328 (1962) (Zitiert nach Janmaat, 1979)
- SENIOR, A.E.:
 The mitochondrial ATPase.
 In: Membrane proteins in energy transduction. CAPALDI, R.A. (ed)
 Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, pp 249-278 (1979)
- SHIMADA, A.:
 Neuropathology of ovine ceroid-lipofuscinosis.
 Master Thesis of Vet. Sci., Massey University, Neuseeland (1987)
- SIKOTOS, A.N., GOEBEL, H.H., PATEL, V., WATANABE, I., ZEMAN, W.:
 The morphological and biochemical characteristics of ceroid isolated from cases of neuronal ceroid-lipofuscinosis.
 In: Sphingolipids, sphingolipidoses and allied disorders. VOLK, B.W., ARONSON, S.M. (eds)
 Plenum Press, New York, (1972)

- SIAKOTOS, A.N., ARMSTRONG, D., KOPPANG, N., CONNOLLE, E.:
Studies on the retina and the pigment epithelium in hereditary canine ceroid-lipofuscinosis. II. Subcellular distribution of lysosomal hydrolases and other enzymes. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 17, 618-633 (1978)
- SIEGISMUND, G., GOEBEL, H.H., LOEBLICH H.J.:
Ultrastructure and visceral distribution of lipopigments in infantile neuronal ceroid-lipofuscinosis. Pathol. Res. Pract. 175, 335-347 (1982)
- SIMON, G.T., BURKE, J.S.:
Electron microscopy of the spleen III. Erythro-leucophagocytosis. Amer. J. Pathol. 58, 451-469 (1970)
- SIPE, J.C., O'BRIEN, J.S.:
Ultrastructure of skin biopsy specimens in lysosomal storage disease. Common sources of error in diagnosis. Clin. Genet. 15, 118-125 (1979)
- SLUGA, E., MAJDETZKI, T.:
Zur Ultrastruktur des Speichermaterials von spätinfantiler amaurotischer Idiotie. Acta Neuropathol. 9, 254-272 (1967)
- SPOERRI, P.E., GLEES, P.:
Neuronal ageing in cultures: An electron microscopic study. Exp. Gerontol. 8, 259-263 (1973)
- SPOERRI, P.E.:
Mitochondrial alterations in aging neuronal cells in culture. Arch. Biol. (Bruxelles) 96, 374 (1985)
- SPOERRI, P.E., KELLY, K., ARMSTRONG, D., ELLIS, A.:
Influence of N-Acetylhomocysteine Thiolactone on cultured retinal cells in canine ceroid-lipofuscinosis. An ultra-structural study. Ophthalmol. Res. 16, 307-314 (1984)
- STEKHOVEN, S.J.H., VAN HAELEST, V.J.G.M.:
Ultrastructural study of so-called curvilinear and fingerprint structures in lymphocytes in late infantile amaurotic idiocy. Acta Neuropathol. 35, 295-306 (1976)
- STEVEN, D.H.:
Pers. Mitteilg vom Mai 1988
- SUZUKI, K., JOHNSON, A.B., MARQUEL, E.:
A case of juvenile lipidosis: electron microscopical, histochemical and biochemical studies. Acta Neuropathol. 11, 122-129 (1968)

- SVENNERHOLM, L.:
Polyunsaturated fatty acid lipidosis. A new nosological entity.
In: Current trends in sphingolipidoses and allied disorders.
VOLK, B.W., SCHNECK, L. (eds)
Plenum Press, New York, pp 389-402 (1976)
- TARKKANEN, A., HALTIA, M., MERENMIES, L.:
Ocular pathology in infantile type of neuronal ceroid-lipofuscinosis.
J. Paed. Ophthalmol. 14, 235-241 (1972)
- TERRY, R.D., KOREY S.R.:
Membraneous cytoplasmic granules in infantile amaurotic idiocy.
Nature 188, 1000-1002 (1969)
- TERRY, R.D., WEISS, M.:
Studies in Tay-Sachs' disease. II. Ultrastructure of the cerebrum.
J. Neuropathol. Exp. Neurol. 22, 18-55 (1963)
- THAW, H.H., COLLINS, V.P., BRUNK, V.T.:
Influence of oxygen tension, pro-oxidants and antioxidants on the formation of lipid peroxidation products (lipofuscin) in individual cultivated human glial cells.
Mech. Ageing Devt. 24, 211-223 (1984)
- TOLLBOM, O., DALLNER, G.:
Dolichol and dolichylphosphate in human tissues.
Br. J. Exp. Pathol. 67, 757-764 (1986)
- TOTOVIC, V., GEDIGK, P., WANG, T.-N., PINO, G.:
Ultrastrukturelle Morphogenese lipid- und eisenhaltiger Pigmente in den Kupfferzellen der Ratte nach Erythrophagie.
Virchows Arch. B Cell Pathol. 34, 123 (1980)
- TOWFIGHI, J., BAIRD, H.W., GAMBETTI, P., GONATAS, N.K.:
The significance of cytoplasmic inclusions in late infantile and juvenile amaurotic idiocy. An ultrastructural study.
Acta Neuropathol. 23, 32-42 (1973)
- VANDEVELDE, M., FATZER, R.:
Neuronal ceroid-lipofuscinosis in older Dachshunds.
Vet. Pathol. 17, 686-692 (1980)
- VAN HAELEST, V.J.G.M., GABREELS, F.J.M.:
The electron microscopic study of the appendix as early diagnostic means in Batten-Spielmeyer-Vogt disease.
Acta Neuropathol. 21, 169-172 (1972)
- VERCRUYSEN, A., MARTIN, J.J., CEUTERICK, C., JACOBS, K., SMERTS, L.:
Adult ceroid-lipofuscinosis. Diagnostic value of biopsies and of neurophysiological investigations.
J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr. 45, 1056-1059 (1984)

- WALKER, J.E., GAY, N.J., POWELL, S.J., KOSTINA, M., DYER, M.R.:
ATP-Synthase from bovine mitochondria: sequences of imported precursors of oligomycin sensitivity conferral protein, Factor 6, and Adenosintriphosphatase inhibitor protein.
Biochem. 26, 8613-8619 (1987)
- WESTERMARCK, T., SANTAVUORI, P.:
Principles of antioxidant therapy in neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Med. Biol. 62, 148-151 (1984)
- WILKIE, J.S.N., HUDSON, E.B.:
Neuronal and generalized ceroid-lipofuscinosis in a Cocker Spaniel.
Vet. Pathol. 19, 623-628 (1982)
- WISNIEWSKI, K.E., RAPIN, I., HEANEY-KIERAS, J.:
Clinico-pathological variability in the childhood neuronal ceroid-lipofuscinoses and new observations on glycoprotein abnormalities.
Am. J. Med. Gen. Suppl. 5, 27-46 (1988)
- WISNIEWSKI, K.E., SUZUMANSKA, G.:
The ultrastructural observation and histochemical localization of some glycoconjugates in neuronal ceroid-lipofuscinosis.
Xth mtl. Congr. Neuropathol. Stockholm, Sweden, Sept. 7-12, p 396 No 799:2 (Abstract) (1988)
- WITKOP, C.J., CUTTER, B., LOCKMAN, L.A.:
Diagnosis of late infantile neuronal ceroid-lipofuscinosis from histochemical and ultrastructural changes in dental pulp.
Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 57, 294-299 (1984)
- WOLFE, L.S., NG YIN KIN, N.M.K., BAKER, R.R., CARPENTER, S., ANDERMANN, F.:
Identification of retinoyl complexes as the autofluorescent component of the neuronal storage material in Batten disease.
Sci. 195, 1360-1362 (1977)
- WOLFE, L.S., NG YIN KIN, N.M.K., PALO, J., HALTIA, M.:
Dolichols in brain and urinary sediment in ceroid-lipofuscinosis.
Neurology 33, 103-106 (1983)
- WOLFE, L.S., IVY, G.O., WITKOP, C.J.:
Dolichols, lysosomal membrane turnover and relationships to the accumulation of ceroid and lipofuscin in inherited diseases, Alzheimer's disease and aging.
Chemica Scripta 27, 79-84 (1987)
- WOLFE, L.S., GAUTHIER, S., HALTIA, M., PALO, J.:
Dolichol and dolichylphosphate in the neuronal ceroid-lipofuscinoses and other diseases.
Am. J. Med. Genet. Suppl. 5, 233-242 (1988)

- WOOD, P.A., SISK, D.B., STYER, E., BAKER, H.J.:
Animal model: Ceroidosis (ceroid-lipofuscinosis) in
Australian cattle dogs.
Am. J. Med. Genet. 26, 891-898 (1987)
- ZEMAN, W., DONAHUE, S.:
Fine structure of the lipid bodies in juvenile amaurotic
idiocy.
Acta Neuropathol. 3, 144-149 (1963)
- ZEMAN, W., DYKEN, P.:
Neuronal ceroid-lipofuscinosis (Batten's) disease:
Relationship to amaurotic family idiocy?
Paediatrics 44, 570-583 (1969)
- ZEMAN, W.:
Historical development of the nosological concept of
amaurotic familial idiocy.
In: Handbook of clinical neurology. VINKEN, P.J., BRUYN, G.W.
(eds)
North Holland Publ. Co., Amsterdam, pp 212-232 (1970)
- ZEMAN, W., DONAHUE, S., DYKEN, P., GREEN, J.:
The neuronal ceroid-lipofuscinoses (Batten-Vogt syndrome).
In: Handbook of clinical neurology. VINKEN, P.J., BRUYN,
G.W.(eds)
North Holland Publ. Co., Amsterdam, pp 588-679 (1970)
- ZEMAN, W., SIAKOTOS, A.N.:
The neuronal ceroid-lipofuscinoses.
In: Lysosomes and storage diseases. HERS, H.G., VAN HOOF, F.
(eds)
Academic Press, New York, pp 519-551 (1973)
- ZEMAN, W.:
Studies in the neuronal ceroid-lipofuscinoses.
J. Neuropathol. Exp. Neurol. 33, 1-12 (1974)
- ZEMAN, W., RIDER, J.A.:
The dissection of a degenerative disease.
Am. Elsevier Publ. Co., New York (1975)
- ZEMAN, W.:
The neuronal ceroid-lipofuscinoses.
In: Progress in neuropathology. ZIMMERMANN, H.M. (ed)
Grune and Stratton, New York, pp 203-223 (1976)

D a n k s a g u n g

Herrn Prof. Dr. E. Dahme gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas, die Hilfe bei der Verwirklichung meines Vorhabens in Neuseeland sowie für die allzeit gewährte fachliche und moralische Unterstützung.

Herrn Prof. Jolly danke ich für die herzliche Aufnahme in seinem Team und dafür, daß er mir alle erforderlichen Mittel frei zur Verfügung stellte.

Herrn Dr. D. Palmer und Herrn R. D. Martinus sage ich Dank für die geduldige Aufschlüsselung biochemischer Sachverhalte sowie für die Unterstützung bei der experimentellen Arbeit.

Herrn Prof. Goebel danke ich dafür, daß er mir seine Literatursammlung zur Verfügung stellte und mich über seine Arbeit an der humanen CL auf dem laufenden hielt.

Frau Prof. Rüsse danke ich für ihre Ratschläge, Herrn Prof. Lösch für die Unterstützung meiner Pläne .

Frau C. Hofmann, Herrn W. Tauscher, Frau P. Slack, Frau P. Davie und den Herren D. Hopcroft und C. Bennet bin ich für ihre unentbehrliche technische Hilfe dankbar.

Frau Linda Dickson danke ich für ihren Einsatz bei der Organisation und Durchführung der Kaiserschnitte.

Weiterhin danke ich meinen Eltern und meinen Freunden.

L E B E N S L A U F

Name: Inge Monika Döpfmer

Geburtstag: 7.3.1959

Geburtsort: Stadtsteinach/Oberfranken

Eltern: Karl Döpfmer, Apotheker
Christa Döpfmer, geb. Scharffetter

Schulbildung: 1965-1969 Angerschule, Hof
1969-1978 Reinhart-Gymnasium, Hof
29.6.1978 Abitur

Studium: 1979-1980 Zahnmedizin in Erlangen
1980-1985 Tiermedizin in München
30.10.1985 Staatsexamen
10.12.1985 Approbation

Tierärztliche
Tätigkeit: 1986-1987 Assistenzzeit und Vertretungen in
Großtier- und Gemischtpraxen.

Dissertation: Juli 1987-August 1988 Mitarbeit am Projekt
"Ovine Ceroidlipofuszinose" bei Herrn
Prof. Jolly, Massey University, Palmerston
North, Neuseeland, das erste Halbjahr als
DAAD-Stipendiatin und sieben Monate als
Angestellte des Massey Department of Veteri-
nary Pathology; in diesem Zeitraum Durchfüh-
rung des experimentellen Teils, der Materi-
alsammlung und Beginn der Auswertungen für
die Doktorarbeit;
September 1988 - Dezember 1988 wissen-
schaftliche Hilfskraft am Institut für Tier-
pathologie, Lehrstuhl für Allgemeine Patho-
logie und Neuropathologie.

